

Handbuch der —
...hnischen Mykologie

herausg. von F. Lafar

Erster Band: Allgemeine Morphologie und Physiologie der Gärungsorganismen.



Jena, Verlag von Gustav Fischer
1907


LANE
MEDICAL
LIBRARY
Gift




LANE
MEDICAL
LIBRARY
SEAL OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY
1885
Gift



Handbuch

der

Technischen Mykologie

für technische Chemiker, Nahrungsmittelchemiker, Gärungstechniker, Agrikulturchemiker, Landwirte, Kulturingenieure, Forstwirte und Pharmaceuten.

unter Mitwirkung hervorragender Fachgenossen,

herausgegeben von

Dr. FRANZ LAFAR,

o. ö. Professor der Gärungsphysiologie und Bakteriologie an der k. k. Technischen Hochschule zu Wien.

In 5 Bänden.

(Zweite, wesentlich erweiterte Auflage von LAFAR, Technische Mykologie.)

Erster Band.

Allgemeine Morphologie und Physiologie der Gärungsorganismen.



Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1904—1907.

Handbuch
der
Technischen Mykologie.

Erster Band.

Allgemeine Morphologie und Physiologie der Gärungsorganismen.

Unter Mitwirkung der Herren

Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **W. Benecke** in Kiel, Prof. Dr. **R. Burri** in Zürich, Prof. Dr. **O. Emmerling** in Berlin, Dozent Dr. **H. Fischer** in Bonn, Prof. Dr. **G. Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **W. Migula** in Eisenach, Prof. Dr. **H. Molisch** in Prag, Dr. **W. Omelianski** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. FRANZ LAFAR,

o. ö. Professor der Gärungsphysiologie und Bakteriologie an der k. k. Technischen Hochschule zu Wien.

Mit zwei Tafeln und 95 Abbildungen im Text.



Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1904—1907.

Druck von Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdr.), Naumburg a/S.

Vorwort des Herausgebers.

Die erste Auflage dieses Werkes, welche in zwei Bänden unter dem Titel „Technische Mykologie“ ausgegeben wurde, war der erste Versuch gewesen, das gesamte große Gebiet der in der Technik und in der Agrikultur eine Rolle spielenden Gärungsorganismen unter einem einheitlichen Gesichtspunkte streng wissenschaftlich zu behandeln. Die aufgewendete Mühe jahrelanger Arbeit blieb nicht ohne Lohn: Der Erste Band, der im Herbste des Jahres 1896 erschienen war, fand so rasch Absatz, daß die ganze Auflage schon im Jahre 1902 ausverkauft war.

Als nun auf wiederholten Wunsch des Herrn Verlegers hin im Jahre 1903 an die Herausgabe einer zweiten Auflage geschritten werden sollte, schien es rätlich zu sein, daß diese nicht mehr von einem einzigen Verfasser allein besorgt werde; denn das zu behandelnde Gebiet war inzwischen sehr stark ausgedehnt und durchforscht worden. Ging man nun von dem Plane des Zusammenwirkens mehrerer Mitarbeiter aus, so war es nur folgerichtig, aus dessen Verwirklichung den höchsten Nutzen dadurch zu erzielen, daß man als Programm für die neue Auflage, die nun als „Handbuch der Technischen Mykologie“ in fünf Bänden geplant wurde, eine erschöpfende Darstellung des ganzen Gebietes aufstellte. Sie sollte nicht bloß der Praxis durch vielseitige Aufklärung dienen, sondern auch die Forschung dadurch fördern, daß sie durch kritische Betrachtung des bisher Erreichten und durch Aufdeckung von Lücken in unserem Wissen nun reichliche Anregung zu neuer und vertiefter Arbeit bietet.

Bei der Auswahl der Mitarbeiter war das Bestreben entscheidend, für jedes Spezialgebiet den zuständigen und vollkommen sachkundigen Fachmann zu gewinnen, der von vornherein die Gewähr bot, daß sein Beitrag als ein objektives und streng wissenschaftliches Bild des zu behandelnden Gegenstandes werde gelten können. Die Fernhaltung jeglicher persönlichen Polemik und die Meidung unfruchtbarer Diskussionen und blendender Hypothesen war dabei ausdrücklich ausbedungen. Männer von derartiger Eignung sind jedoch für solches Zusammenwirken schon aus dem einen Grunde schwer zu verpflichten, weil sie, gerade wegen

ihrer hervorragenden Tüchtigkeit, fast ausnahmslos auf Posten stehen, welche zu derlei Nebenarbeit, die aber sehr hohe Ansprüche an Zeit und Mühe stellt, gewöhnlich sehr wenig Muße lassen. Dazu kam noch die Notwendigkeit der Auferlegung des Lieferungstermines, wie auch die Begrenzung des zuzuweisenden Raumausmaßes, welches im Hinblick auf die Absatzmöglichkeit immer recht knapp gehalten werden mußte, weiterhin als Folge davon die Forderung nach gedrängtester stilistischer Darstellung, um dennoch die erstrebte erschöpfende Behandlung des Stoffes zu sichern, und schließlich die Einfügung des einzelnen als Glied eines einheitlichen Ganzen, also die Rücksicht auf die Bearbeiter verwandter Kapitel und somit der Verzicht auf die Erörterung dieser oder jener Einzelheit im Interesse der Vermeidung raumzehrender Wiederholung. Gerade die Beachtung der letzteren Rücksicht, die einzig und allein dem Käufer des Buches zu Liebe unablässig im Auge behalten wurde, hat mich sehr viel Korrespondenzarbeit gekostet, die bei den Mitarbeitern erfreulicherweise fast immer verständnisvolles Entgegenkommen gefunden hat, was ich hier anerkennend betonen kann. Die meisten der (insgesamt zweiundvierzig) Mitarbeiter haben also durch die Uebernahme ihrer Aufgabe ein hohes Maß von Opferwilligkeit betätigt, die ihren wahren Lohn nicht in dem Autorhonorar finden kann, sondern in der Anerkennung des Lesers und in dem ideellen Nutzen suchen muß, den wir uns für die fernere Entwicklung der technischen Mykologie und die Mehrung ihrer Wertschätzung in der Landwirtschaft und Technik von dem Handbuche erhoffen. Und gerade in letzterer Hinsicht soll noch viel sich bessern; denn gar mancher Fabriksdirektor bewilligt viel leichter den Ankauf einer neuen Maschine als den eines neuen Buches und ist sehr erstaunt, wenn man ihm zu bedenken gibt, daß mit veralteten Hilfsmitteln nicht bloß der Fabriksbetrieb sondern ebensogut auch der Laboratoriumsbetrieb rückständig werden muß.

Die Art der Verteilung des Stoffes auf die einzelnen Bände dieses Handbuches war wiederholt Gegenstand der Beratung mit mehreren der Mitarbeiter, von denen insbesondere Herr Prof. Dr. Joh. Behrens, derzeit Direktor der Kaiserl. Biolog. Anstalt für Land- und Forstwirtschaft zu Dahlem bei Berlin, das werdende Werk auch sonst durch mancherlei Rat und Tat gefördert hat. Im Interesse sowohl des buchhändlerischen Vertriebes, welcher den Verkauf auch einzelner Bände für sich vorgesehen hatte, als auch der Brauchbarkeit des Handbuches wurde nach Schaffung abgerundeter Gebiete gestrebt und so der gesamte Stoff im großen und ganzen wie folgt verteilt: Der Erste Band gibt eine tiefgreifende Darstellung der allgemeinen Morphologie und Physiologie der Gärungsorganismen überhaupt, der Zweite Band bringt die Mykologie der Nahrungsmittelgewerbe im engeren Sinne, der Dritte Band behandelt hauptsächlich die Mykologie des Bodens, des Wassers und des Düngers, der Vierte Band ist der speziellen Morphologie und Physiologie der

Hefen und der Schimmelpilze gewidmet, und der Fünfte Band schließlich enthält die Mykologie der Brauerei, Brennerei, Preßhefenfabrikation, Weinbereitung, Obstverwertung, Essigfabrikation, Gerberei und Tabakfabrikation.

Diese Aufteilung des Stoffes konnte aber nicht bis in die Einzelheiten hinein streng durchgeführt werden. Schon die Rücksicht auf die doch auch erwünschte Massenausgleichung, wie auch der Umstand, daß für manche Kapitel kein engerer Anschluß sich finden ließ, mußten es mit sich bringen, daß keiner der fünf Bände ein abgerundetes Ganzes werden konnte. So sind z. B. im Dritten Bande auch die Rotte der Gespinnstfasern und die Haltbarmachung des Nutzholzes, im Vierten Bande die Anwendung einiger Pilze im Nahrungsmittelgewerbe Ostasiens untergebracht; es ging eben nicht besser. Zu diesen mehr äußerlichen Anlässen kamen noch Gründe sachlicher Natur hinzu. Einerseits sind in Darlegungen allgemeiner Art in dem einen Bande, um sie anschaulicher zu machen, von dem Bearbeiter dieses Themas gelegentlich Beispiele spezieller Natur hineingezogen worden, die eigentlich in einem anderen Bande stehen sollten, in welchem sie nun aber nur noch in Gestalt eines Hinweises auf jenen ersteren auftauchen. Andererseits wieder ist manche Tatsache allgemeiner Natur, die mit weit weniger Worten sich im Zuge einer speziellen Darlegung anschaulich machen läßt, in dieser letzteren erledigt. Dazu gesellte sich weiter noch das Bestreben, in Kapiteln, welche erst später zur Drucklegung gelangten, jede schickliche Gelegenheit auszunutzen, um in ihnen auch solche Veröffentlichungen noch zu verwerten, welche zwar in den Bereich anderer verwandter Kapitel gehörten, jedoch erst nach der Drucklegung dieser letzteren erschienen sind. So wurden z. B. in dem später gedruckten § 136 des vorliegenden Ersten Bandes ergänzende und abändernde Bemerkungen zu den Angaben des viel früher gedruckten ersten Kapitels des Fünften Bandes über Tabakfermentation untergebracht. Kurz gesagt, wer aus dem Handbuche die höchstmögliche Ausbeute gewinnen will, wird in vielen Fällen mehr als einen Band zu Rate ziehen müssen und wird nicht selten am besten tun, alle fünf einzusehen, eine Arbeit, die dem Leser durch die Register erleichtert wird, auf deren Anlegung und Redigierung sehr viel Sorgfalt aufgewendet worden ist.

Das Werk auf der Höhe der Zeit zu erhalten, es davor zu bewahren, daß es während der nach und nach vorschreitenden Drucklegung in seinen zuerst veröffentlichten Teilen schon wieder veralte, das war, angesichts der ungestümen Tätigkeit der Forschung, von allem Anfang an der Gegenstand meiner besonderen Vorsicht und weiterhin meiner unablässigen Obsorge und des opferwilligen Eifers all jener Mitarbeiter, die ihre bereitgestellten aber noch nicht verwendbaren Beiträge bis zum Augenblick der Einberufung immer wieder ergänzten und auf dem laufenden erhielten. Um zu verhüten, daß die Drucklegung für

längere Zeit dadurch ganz zum Stillstand komme, daß ein Mitarbeiter den fälligen Beitrag nicht rechtzeitig zur Ablieferung brachte, hatte ich von allem Anfang an die Zustimmung der Verlagshandlung dazu erbeten, daß nicht ein Band nach dem anderen zur Drucklegung und Ausgabe gelangen, sondern daß alle fünf Bände nebeneinander vorrücken sollten, so zwar, daß immer eine Lieferung von zehn Bogen ausgegeben wurde, sobald von einem Bande diese Anzahl fertiggestellt war. Diese Erscheinungsart lag zunächst weder im Interesse des buchhändlerischen Vertriebes, welcher derart ja erst sehr spät einen fertigen Band bieten konnte, noch auch im Interesse des Herausgebers, welcher dadurch gezwungen war, sein Augenmerk auf fünf Fronten zu verteilen, wohl aber im Interesse des Lesers und auch der Mitarbeiter. Ich würde das nicht besonders betonen, wenn nicht ein (im übrigen sachkundiger und wohlwollender) Rezensent in einer seiner Besprechungen bemängelt hätte, daß die einzelnen Lieferungen so bunt durcheinander ausgegeben würden, einmal aus diesem Bande und das nächste Mal aus einem anderen. Heute bin nicht bloß ich allein froh, daß ich derart vorgesorgt hatte. Denn mehr als einmal ist es geschehen, daß ein Mitarbeiter auf seinen schon dringend benötigten Beitrag aus mancherlei Ursache mehr als ein Jahr lang warten ließ; in solchem Falle wurde eben an den übrigen Bänden rascher vorgeschoben, dank dem eifrigeren Entgegenkommen anderer Mitarbeiter. Der Leser wird auf solche Zeiten des teilweisen Stillstandes stoßen, wenn er beim Durchblättern der Bände das am Titelkopf eines jeden Kapitels vermerkte Datum des Manuskript-Einlaufes beachtet, eine Angabe, die freilich nicht zu jenem Zwecke sondern in der Absicht angebracht wurde, um dem Leser ein Urteil darüber zu ermöglichen, bis zu welchem Zeitpunkte in den einzelnen Kapiteln die Literatur noch verarbeitet worden sein kann. Daß ein derart paralleles Vorrücken der fünf Bände von allem Anfang an eine bis ins einzelne ausgebaute und genau festgelegte Disposition des ganzen Werkes zur unerläßlichen Voraussetzung hatte und weiterhin bei der redaktionellen Durcharbeitung der Beiträge ein unablässiges Auslugen des Herausgebers notwendig machte, wenn nicht Auslassungen, Wiederholungen oder Irrtümer in den Verweisungen eintreten sollten, brauche ich wohl nicht erst anzudeuten. Heute, wo ich dieses Vorwort zu dem Ersten Bande schreibe, ist, dank jener gekennzeichneten Vorsicht, nicht bloß dieser selbst fertig, sondern es liegt auch der Dritte und der Vierte Band vollständig vor, deren Schlußlieferung schon im Oktober 1906 bezw. im August 1907 ausgegeben worden ist, während dem Zweiten Bande nur noch wenige Bogen fehlen und die Schlußlieferung des Fünften Bandes, so hoffe ich, bald folgen wird.

Die verarbeitete Literatur wurde in jedem Kapitel gesondert in einem alphabetisch geordneten Anhange verzeichnet, auf dessen Angabe die im Texte dem Autornamen in Klammern angefügte arabische Ziffer

verweist. Auf Wunsch des Herrn Verlegers mußten, um Raum zu sparen, die Titel der Abhandlungen fortgelassen werden. Der Citierung der Quellen wurde große Aufmerksamkeit zugewendet. Um die Zuverlässigkeit der Angaben nach Tunlichkeit zu sichern, war ich unablässig damit bemüht, die Mitarbeiter, wenn nötig, dazu zu bewegen, daß sie in ihren Literaturcitaten nicht bloß den Jahrgang der Zeitschriften sondern auch die Bandnummer und die Seitenzahl angeben. Für die häufiger citierten Zeitschriften-Titel wurden durchwegs die gleichen Abkürzungen gebraucht, deren Verzeichnis in einem jeden Bande auf dessen letzter Seite zusammengestellt ist. Diese Abkürzungen stimmen entsprechend mit jenen überein, welche in dem in demselben Verlage erschienenen „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen" von Prof. Dr. Kolle und Prof. Dr. Wassermann gebraucht worden sind, zu dem das vorliegende „Handbuch der Technischen Mykologie" das Gegenstück werden soll. Auf der Anführung des Jahres der Veröffentlichung jeder citierten Abhandlung habe ich aus dem Grunde so hartnäckig bei den Mitarbeitern bestanden, weil erst mit Hilfe dieser Zahl es dem nach Ueberprüfung oder ausführlicherer Belehrung strebenden Leser leicht gemacht ist, in einer referierenden Zeitschrift nachzusuchen, falls ihm die citierte Originalquelle nicht zugänglich ist. Gegenüber der sonst in wissenschaftlichen Werken üblichen Art der Citierung in Form von Fußnoten hat die hier gewählte nicht bloß den typographischen Vorzug der schönen Gleichmäßigkeit der Buchseiten und des Fortfallens der Störung des Lesers durch die Hinweise auf den Unterstock, sondern sie gewährt auch einen leichten Ueberblick über die gesamte Literatur des jeweilig behandelten Gebietes und über die zeitliche Entwicklung der Forschung.

Die typographische Richtigkeit des Handbuches wird, wie ich wohl hoffen darf, nicht viel zu wünschen übrig lassen; denn auch ihr wurde große Sorgfalt gewidmet. Die Fahnen-Korrektur eines jeden Beitrages wurde nicht bloß von dem betreffenden Autor allein gelesen, sondern unabhängig davon noch von mir, in einem dritten Exemplare von Herrn Privatdozenten Dr. Kossowicz in Wien und in einem vierten Exemplare von Herrn Assistenten Leopold Meyer an der hierortigen technischen Hochschule; letzterem hat überdies die Ueberprüfung der Vollständigkeit der Literatur-Citierung oblegen, eine mühevolle Arbeit, die aber, wie sich immer wieder zeigte, unerläßlich war. Ich spreche diesen zwei Herren für deren unverdrossene Ausdauer und stets bereite Arbeitsfreudigkeit hiermit meine volle Anerkennung und wohlverdienten Dank aus. Nach der ersten Korrektur wurde hierauf noch die paginierte Revision eines jeden Bogens sowohl von dem betreffenden Autor als auch von mir gelesen. Wenn nun dennoch Schreibfehler oder Druckfehler entdeckt werden sollten, möge man sie billig beurteilen.

Daß die Verlagshandlung reichlich das Ihre getan hat, um das Werk in gediegener Ausstattung erscheinen zu lassen, brauche ich nicht

näher darzutun; denn darüber vermag der Leser ja selbst zu urteilen. Wohl aber muß ich, weil nur ich allein das zu verfolgen vermochte, der Druckerei und ihrem vortrefflichen Personale meinen Dank aussprechen: Mit dem Fleiße einer Biene und der Zuverlässigkeit einer Maschine wird seit fast vollen vier Jahren ununterbrochen an dem Satz mit einer Tüchtigkeit gearbeitet, der ich meine Anerkennung nicht vorenthalten darf.

Und so sei denn das Handbuch den Fachgenossen und den Praktikern im Sinne jener Worte hingegeben, die sich in dem Prospectus über die geplanten „Horen“ finden, den am 13. Juni 1794 Friedrich Schiller seinem ersten Schreiben an Goethe beigelegt hatte: „Nur der innere Wert einer literarischen Unternehmung ist es, der ihr ein dauerndes Glück bei dem Publikum versichern kann; auf der anderen Seite aber ist es nur dieses Glück, welches ihrem Urheber den Mut und die Kräfte gibt, etwas Beträchtliches auf ihren Wert zu verwenden. Die große Schwierigkeit also ist, daß der Erfolg gewissermaßen schon realisiert sein müßte, um den Aufwand, durch den allein er zu realisieren ist, möglich zu machen. Aus diesem Zirkel ist kein anderer Ausweg, als daß ein unternehmender Mann an jenen problematischen Erfolg so viel wage, als etwa nötig sein dürfte, ihn gewiß zu machen.“

Wien, im Oktober 1907.

Dr. **Lafar.**

Inhaltsverzeichnis.

Einleitung.

Von Dr. Lafar.

Erster Abschnitt.

Allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Schizomyceten.

Von Prof. Dr. W. Migula.

1. Kapitel.

2. Kapitel.

3. Kapitel.

10. Kapitel.

Dritter Abschnitt.

Die chemischen Bestandteile der Schizomyceten und der Eumyceten.

Von Dr. Hugo Fischer.

11. Kapitel.

12. Kapitel.

Vierter Abschnitt.

Allgemeine Physiologie der Ernährung der Schizomyceten und der Eumyceten (Stoffwechsel).

13. Kapitel.

Sechster Abschnitt.

Keimfreimachung und Reinzüchtung.

Siebenter Abschnitt.

Thermogene und photogene Bakterien.

Achter Abschnitt.

Glycosidspaltungen und Oxydasenwirkungen.

Von Prof. Dr. J. Behrens.

26. Kapitel.

27. Kapitel.

Einleitung.

Von Dr. Lafar.

§ 1. Ansichten über das Wesen der Gärung bis zu Stahl.

„Indem ich die Historie der Fermentation zur Hand nehme, würde ich mir nicht sonderlich angelegen sein lassen, bey der Ursache der 5 Benennung zu verweilen, wenn sich nicht eben deswegen bishero eine gar merckliche Schwierigkeit hervorgethan hätte, was vor Arbeiten und Behandlung nemlich dem Wort Fermentation mit Fug und Recht beygeleget werden könne.“

Mit diesen Worten beginnt G. E. Stahl (1) das erste Kapitel seiner 10 „Zymotechnia fundamentalis“. Die darin betonte Schwierigkeit einer scharfen Begrenzung und allgemein zutreffenden Bestimmung des Begriffes **Gärung** ist in den seitdem verflossenen zwei Jahrhunderten nur noch gestiegen. Und dennoch dürfen wir ihr nicht aus dem Wege gehen. Versuchen wir zunächst, ihr nicht auf den Irrgängen natur- 15 philosophischer Spekulation, sondern auf dem Pfade etymologischer Forschung näher zu rücken.

Das „Deutsche Wörterbuch“ der Gebrüder Grimm (1) leitet den Ausdruck Gärung von dem Worte gar ab, welches soviel wie bereit, fertig, ganz bedeutet. Das Wort gar ist übrigens eine Abschwächung 20 der ursprünglichen volleren Form garb, wie sie noch im 16. Jahrhundert, z. B. auch bei Hans Sachs, sich findet und in den Worten gärben und Gärbung sich erhalten hat, deren heutige Schreibweise gerben und Gerbung erst im Verlaufe des verflossenen Jahrhunderts allgemein gebräuchlich geworden ist. Die Wurzel des in einigen hoch- 25 deutschen Dialekten, so auch im bayrisch-österreichischen, gebräuchlichen Wortes jesen anstatt gären (aber auch faulen) steckt auch in dem niederdeutschen Worte giest und in dem englischen Worte yeast für Hefe. Der etymologischen Bedeutung entsprechend ist Gärung also ein Vorgang, durch welchen etwas Unfertiges (organi- 30 sierter Natur) in einen Zustand übergeführt wird, in welchem es dann erst zum Genusse oder zur anderweitigen Verwendung fertig, gar, ist. Die Veränderungen, welche ein solcher Gegenstand durchmacht, um in den garen Zustand zu gelangen, sind jedoch im wesentlichen nicht physikalischer Art, sondern vollziehen sich, wie noch 35 dargelegt werden soll, durch die chemisch-physiologische Tätigkeit von

Kleinlebewesen. Beispiele solcher „Gärungen“ sind die Umwandlung des schwer verdaulichen Quarkes in den leicht verdaulichen Käse, ebenso diejenige des wenig haltbaren Mostes in den verhältnismäßig besser haltbaren Wein. Also die Umwandlung zum Günstigeren ist hier das
5 Hauptmerkmal, und die Beschränkung des Kreises der gar zu machenden Gegenstände auf Produkte der belebten Natur der (stillschweigend gemachte) einengende Zusatz. Wenn hingegen der betroffene Gegenstand (Nahrungsmittel oder Gebrauchsgegenstand organischer Herkunft) durch derartige Tätigkeit nicht verbessert oder nicht bekömmlicher oder
10 nicht schmackhafter oder nicht haltbarer gemacht, sondern verdorben, verschlechtert, zum Genusse oder zu seiner Verwendung untauglich gemacht wird, dann bezeichnet man die eingetretene Umwandlung als Fäulnis.

Die Kenntnis dieser eben bezeichneten Vorgänge, insbesondere der
15 Alkoholgärung, ist uralt. Die Griechen feierten den Gott Bacchus als den Erfinder der Weinbereitung. Die Aegypter priesen ihren Gott Osiris als denjenigen, welcher die erste Anleitung zur Bierbrauerei gegeben habe. Die Erkenntnis des Wesens dieser Erscheinungen blieb jedoch bis in die Neuzeit hinein eine recht oberflächliche. Und wie auf
20 vielen anderen Gebieten so artete auch hier der Streit der Meinungen in ein Spielen mit hohlen Phrasen und dunkelsinnigen Wendungen aus. Die (lateinisch verhandelnden) Gelehrten warfen sogar das Wort *Fermentatio*, welches ungefähr unserem deutschen Ausdruck Gärung entsprechen würde, mit dem Worte *Digestio* zusammen, welches man heute
25 mit Verdauung wiedergeben könnte. Je mehr man mit diesen Begriffen schaltete, um so größer wurde der Kreis der Erscheinungen, welche man ihnen unterstellte und um so mehr schwand daraus der Inhalt. Und so langte man bald dabei an, die Bezeichnung *Digestio* (bzw. *Fermentatio*) auf jegliche stoffliche Umwandlung, und zwar nicht
30 bloß von Körpern organischer Natur, anzuwenden. Der in der analytischen und präparativen Chemie auch heute noch gebräuchliche Ausdruck Digerieren ist ein sprachliches Petrefakt aus jener Vergangenheit. Der verallgemeinerten Auffassung entsprechend, verstand man dann unter dem Worte **Ferment** einen jeglichen Körper, welcher fähig
35 war, irgend eine (chemische) Umsetzung hervorzurufen. In solch weitem Sinne gebrauchten Paracelsus (1493—1541), van Helmont (1577 bis 1644) u. a. diese Ausdrücke. Verwirrung, Wortschwall und Verdunklung wuchsen immer mehr an. Hermann Kopp (1) hat in seiner „Geschichte der Chemie“ alles Wissenswerte einschließlich der Literatur darüber
40 zusammengestellt. Er bemerkt dazu: „Ich verzweifle fast daran, mir einen klaren Begriff über den Sinn, den die Alchemisten mit den Bezeichnungen „fermentatio“ und „fermentum“ verbanden, zu verschaffen.“ Hier, in vorliegendem Handbuche, auf jene Vergangenheit näher einzugehen, ist also überflüssig. Es wird genügen, einige wenige Angaben,
45 welche für den Mykologen von Interesse sind, herauszuheben.

Man mußte gar bald die Beobachtung machen, daß der Most, wenn er in Gärung gerät, sich mit Schaum bedeckt, und daß nach Ablauf dieser Erscheinung sich am Boden dieses Gefäßes eine beträchtliche Ausscheidung vorfindet, nämlich die Hefe. Man faßte so die Gärung
50 als einen Reinigungsvorgang auf, durch welchen die (anfänglich trübe, mißfarbene) Flüssigkeit sich verbessere, von Schmutz frei mache, worauf dann der so gereinigte Alkohol in seiner wahren Eigenschaft hervortrete. Man gab aus diesem Grunde dem Bodensatze die Bezeich-

nung *faeces vini*, bzw. *faeces cerevisiae*, d. i. Kot des Weines, bzw. Bieres. Diese Ansicht wurde z. B. von Basilius Valentinus vertreten, einem deutschen Mönche und Alchemisten, der zu Anfang des 15. Jahrhunderts in Erfurt lebte.

Erst bei dem deutschen Alchemisten Joh. Joachim Becher (1635 bis 1682) findet man eine einigermaßen erfreuliche neue Bemerkung. Zunächst wies er im Jahre 1669 auf die Verschiedenheit von Gärung (*fermentatio*) und Fäulnis (*putrefactio*) hin, darin bestehend, daß die erstere verbessernd, die letztere verschlechternd wirke. Er unterschied schon dreierlei Arten von Gärung: die wallende, die geistige (Alkohol-) und die saure (Essig-) Gärung. Einige Jahre später (1682) wird in den nachgelassenen Schriften des englischen Chemikers Thomas Willis (1622—1675) das Ferment als ein in innerlicher Bewegung befindlicher Körper erklärt, welcher auf die Weise wirke, daß er diese Bewegung einem anderen gärfähigen Körper mitteile.

Eine ähnliche Deutung, fast mit den gleichen Worten, gibt dann im Jahre 1697 der den Chemikern vornehmlich als Begründer der Lehre vom Phlogiston bekannte Alchemist Georg Ernst Stahl (1660—1734) in seiner schon eingangs dieses Paragraphen angeführten „Zymotechnia fundamentalis“, worin er, nach dem Wortlaute der im Jahre 1748 erschienenen deutschen Uebersetzung, sagt: „Die Fermentation ist eine innerliche Bewegung, wodurch verschiedene nicht gar zu fest verknüpfte Zusammensetzungen, vermittelst einer dahin dienlichen Feuchtigkeit ergriffen und durch langwieriges Untereinandertreiben aneinander gerieben und gestossen werden, wesfalls die Verknüpfung des gegenwärtigen Zusammenhanges von einander gerissen, die abgerissenen Theilchen aber durch das stete Reiben verdünnet, und in eine neue und zwar stärkere Verbindung versetzet werden.“ Dieser Ausspruch ist zu großem Ansehen gelangt und sogar mit dem Ehrentitel einer Gärungstheorie belehnt worden. Er ist jedoch weder originell, denn das wesentliche darin findet sich ja schon bei Willis, noch auch besagt er, etwas genauer besehen, besonders viel. Man ist bei dessen Bewertung bisher in jenen Fehler verfallen, vor welchem Lewes in seiner „Geschichte der Philosophie“ in betreff der Auslegung der alten Philosophen, insbesondere auf dem Gebiete der Erkenntnistheorie, warnt, nämlich, in die Aussprüche der Alten moderne Anschauungen und Erkenntnisse hineinzulegen und so dann mehr herauszudeuten als jene überhaupt hatten meinen können. Liebig knüpfte später mit seiner noch anzuführenden Art der Auffassung des Wesens der Gärung an Stahl's Ausspruch an und so wurde diesem letzteren um des zu verteidigenden Nachfolgers willen ein Umfang und eine Tragweite zugesprochen, welche eine von solcher Rücksicht freie Kritik nicht wird gelten lassen können. Wenn Stahl von Molekülen redet, so geschieht dies doch nur in dem unbestimmten und rohen Sinne der damaligen Zeit, welcher fast nichts mit der Anschauung gemein hat, welche wir heute mit diesem Begriffe verknüpfen. Und wer bei dem Worte „innere Bewegung“ in Stahl's Satz an eine energetische Auffassung denken zu dürfen meint, sei zur Vermeidung solch wohlwollenden Irrtums auf den erläuternden Satz verwiesen, welcher sich im 5. Kapitel des I. Teiles von Stahl's „Fundamenta Chymiae dogmatico-rationalis et experimentalis“ findet: „. . . Weil die Fermentation eine Bewegung ist, so ist es nötig, daß nicht allein etwas bewegliches sondern auch etwas bewegendes oder ein Beweger zugleich gegenwärtig sey. Das Bewegliche machen die saltzigte, saure, erdige, schwefelichte

Theilchen aus. Der vornehmste Beweger aber ist die in diesen Theilchen eingeschlossene und unter deren glebrichten Zusammen-Ordnung verborgene Lufft, welche sich mit Beyhülffe der äußerlichen warmen Bewegung des Aetheris ausdehnet, und diejenige Bande, in welchen sie verhafftet gewesen, zu zerreissen suchet; wannenhero sie auf allen Seiten die Particulchen anpacket, zerreisset, auseinander setzet und zertheilet, aus welcher Zertheilung dann die Geisthafftigkeit und Subtilisirung der dicken erdigten Theile, welche ihrer Art nach schwehrer als das flüssige sind und die Niederschlagung derselben auf dem Grund entstehet. . . .“

§ 2. Entdeckung der Gärungsorganismen durch Leeuwenhoek.

Das Jahr 1632 ist das Geburtsjahr von zwei Männern, welche, jeder auf einem besonderen Gebiete, revolutionierend und bahnbrechend wirken sollten. Auf schottischem Boden kam John Locke zur Welt, welcher den Elementarfunktionen des Denkens und Urteilens nachspürte und auf dem Gebiete der Erkenntnistheorie die Grundlage zu jenem Gebäude legte, welches durch Kant dann kühn aufgeführt wurde. Auf holländischem Boden, zu Delft, hingegen wurde am 24. Oktober Antoni van Leeuwenhoek[1]) geboren, welcher die Welt im Wassertropfen entdecken und so ein neues Wissensgebiet eröffnen sollte, das in seiner Unermeßlichkeit das Feld eifrigster Tätigkeit und unerschöpflicher Fruchtbarkeit schon bis heute gewesen ist und wohl auch in Zukunft bleiben wird.

Im Alter von 16 Jahren kam Leeuwenhoek in einem Schnittwarengeschäfte zu Amsterdam als Lehrling unter und brachte es daselbst bald zum Buchhalter und Kassier. Nach einiger Zeit gab er die Stellung auf, zog sich nach Delft zurück und lebte daselbst zunächst als Privatmann. Später nahm er ein Amt in der Stadtverwaltung an, welches er dann durch 39 Jahre versah. Er starb am 26. August 1723. Schon in seiner Lehrlingszeit hatte er in regem und vielseitigem Wissenstriebe sich mit der Herstellung von kleinen Glaslinsen befaßt und brachte es in dieser Kunst dann später in seinen Mußestunden zu so großer Fertigkeit, daß deren beste Ergebnisse eine lineare Vergrößerung bis zu 160 lieferten. Mit solchen Linsen betrachtete und durchsuchte er die mannigfaltigsten Gegenstände der Natur. Wohl niemand vor ihm hatte Gläser von derart hoher Leistungsfähigkeit besessen. So war es also ihm vorbehalten, uns in die Welt des Kleinen einzuführen und mit Fug und Recht den Titel eines Vaters der Mikrographie, d. h. der Beschreibung und Kenntnis des mit freiem Auge nicht Sichtbaren oder nicht Erkennbaren, zu erhalten.

Soweit bekannt ist, hat Leeuwenhoek bei seinen Beobachtungen sich fast ausschließlich der (passend gefaßten) einfachen Glaslinse, also der Lupe, bedient. Das zusammengesetzte Mikroskop, das Kompositum, war zwar damals schon bekannt, denn es war ja um das Jahr 1590 durch die Brillenglasschleifer Johannes und Zacharias Janssen, Vater und Sohn, zu Middelburg in Holland erfunden worden. Es war aber selbst noch zu Leeuwenhoek's Zeit nur für die Beobachtung bei auffallendem Lichte eingerichtet und leistete zudem weniger als des letzteren For-

[1]) Sprich: Le-uwenhuk.

schers stärker vergrößernde einfache Lupen. Von den durch diesen merkwürdigen Mann gemachten Entdeckungen auf den mannigfaltigsten Gebieten der Welt des Kleinen können nur einige wenige hier kurz angeführt werden. Wer mehr zu erfahren wünscht, findet es bei R. J. Petri (1), wo auch noch weitere literarische Quellen zusammengestellt sind. Leeuwenhoek hat seine Beobachtungen den Zeitgenossen und der Nachwelt in Gestalt von Briefen mitgeteilt, von denen die Mehrzahl (120 an der Zahl) an die Royal Society zu London gerichtet waren und in den Bänden VIII bis XXXII der Philosophical Transactions veröffentlicht wurden.

Schon der vom 28. April 1673 datierte erste Brief an diese Körperschaft, deren Mitgliedschaft ihm dann im Jahre 1679 verliehen wurde, bringt eine uns hier interessierende Beobachtung über einen zarten Schimmel, welchen Leeuwenhoek auf Fleisch und anderen Unterlagen bemerkt hatte. Unter dem 14. Juni 1680 gibt er Beschreibung und Abbildung der Bierhefe, denen er unter dem 12. November gleichen Jahres Beobachtungen über Weinhefe und Hefen aus gärenden Sirupen anreiht. Am 4. November 1681 berichtet er dann über „lebende Tierchen", welche er in seinem Stuhle (*faeces*) beobachtet hatte. In seinem Brief vom 12. September 1683 gibt er nun die erste überhaupt bekannt gewordene Abbildung von Bakterien (*Fig. 1*), welche er im Zahnschleim aus seinem Munde beobachtet hatte, und die er wegen der an ihnen bemerkten Eigenbewegung als „Tierchen" ansprach. Er verfolgte diese Angelegenheit auch weiterhin und berichtete darüber in seinem Briefe vom 16. September 1692. Die darin gebrachte zweite Abbildung ist bei Petri (1) und auch bei Loeffler (1) wiedergegeben.

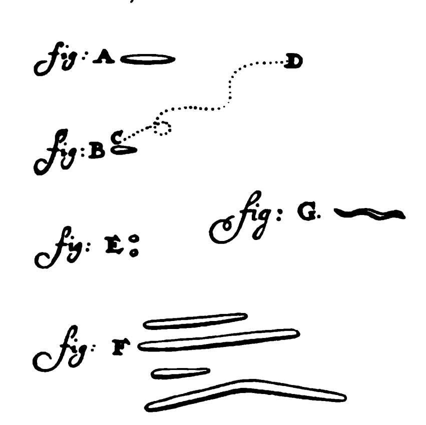


Fig. 1. Die erste Abbildung von Bakterien durch Leeuwenhoek aus dem Jahre 1683. (Aus Petri, Das Mikroskop.)

Bis in seine alten Tage bewahrte sich Leeuwenhoek die Gabe scharfer Beobachtung, ein erstaunlich klares Urteil und Unbeugsamkeit der darauf gegründeten Ueberzeugung. Beweis dafür gibt sein Brief vom 24. Oktober 1713 betreffend die Meinung, welche der deutsche Jesuitenpater und Professor am Collegium Romanum zu Rom, Athanasius Kircher (1601—1680), auf Grund ungenauer Beobachtungen mit weit weniger leistungsfähigen Instrumenten, über die Entstehung von Organismen aus mancherlei andersartigen Stoffen aufgestellt hatte. Der nun 81 Jahre alte Leeuwenhoek äußert sich darüber mit Worten, welche in der durch Petri gegebenen Uebersetzung wie folgt lauten: „. . . Ich muß sagen, daß es zu beklagen ist, daß Kircherus so viele Unwahrheiten zu Papier gebracht hat, wie wir in seiner „Unterirdischen Welt" finden. Diese seine Behauptung, daß lebende Geschöpfe aus allen verdorbenen Pflanzen und Früchten hervorkommen, hat bei den Menschen so viele und tiefe Wurzeln geschlagen, daß dieselben nicht so leicht wieder herauszubringen sind. . . . Die Wißbegierigen stellen fest, daß aus Nichts kein Etwas entstehen kann; das wird Kircherus ohne Zweifel mit festgestellt haben. . . . Hätte Kircherus ein gutes Vergrößerungs-

glas gehabt und dasselbe ordentlich gebrauchen können beim Zergliedern der Geschöpfe bis herab auf solche kleine Tierchen, die sich beinahe unserem Gesichte entziehen, dann würde er der Welt nicht so viele Unwahrheiten hinterlassen haben. . . ."

§ 3. Die Lehre von der Urzeugung.

Das Aufsehen, welches die Veröffentlichungen des Delfter Privatgelehrten in den an dem Studium der Natur interessierten Kreisen in ganz Europa machten, können wir auch an den auf uns gekommenen Berichten von Reisenden ermessen, von denen manche sogar die Mühen eines recht weiten Weges nicht scheuten, um den berühmten Entdecker des Mikrokosmus zu sprechen. Eine weitere Folge war auch eifrige Tätigkeit auf dem Gebiete der Anfertigung von Mikroskopen, welche nun in immer steigender Leistungsfähigkeit einem rasch anwachsenden Kreise von Forschungslustigen zugänglich wurden. Und dadurch kam auch eine hochwichtige Streitfrage in Fluß, welche zwar schon vordem sehr lange bestanden hatte, aber durch die Entdeckung der Kleinlebewesen neu aufloderte, nämlich die Lehre von der Urzeugung.

Nicht bloß im Altertum, sondern bis in die Neuzeit herein galt es für gewiß, daß selbst höhere Tiere unmittelbar aus nicht organisierten Stoffen hervorgehen. So gab, um nur ein Beispiel anzuführen, noch der schon im ersten Paragraphen genannte, berühmte Chemiker J. B. van Helmont allen Ernstes ein Rezept für die künstliche Züchtung von Mäusen an. Für solche Entstehung (Zeugung) von organisierten, lebenden Gebilden aus nicht organisierten, unbelebten Urstoffen, hatte man die deutsche Bezeichnung **Urzeugung** gegeben. Die ihr entsprechenden und untereinander synonymen lateinischen Ausdrücke *generatio spontanea*, *generatio aequivoca*, *Heterogenesis* und *Abiogenesis* besagen das gleiche, indem sie auf die freie, elternlose, also spontane Entstehung eines Wesens aus Stoffen, welche unbelebt (*Abiogenesis*), ihm ungleichartig (heterogen, *aequivok*) sind, hinweisen. Soweit größere, mit freiem Auge gut erkennbare Lebewesen in Frage kamen, mußte jener Aberglaube in dem Maße, als der kritische Geist in Europa sich hob und erstarkte, nach und nach weichen. So war z. B. die alte Meinung, daß die in faulendem Fleisch oft zu bemerkenden Maden durch eben diese Fäulnis entstehen, im Jahre 1675 durch den Florentiner Franz Redi dadurch widerlegt worden, daß er über die Oeffnung des Gefäßes, in welchem er Fleisch faulen ließ, eine feine Gaze spannte und zeigte, daß ohne den Zutritt eierlegender Fliegen jene Bevölkerung nicht zustande kam. Aus derartigen Stellungen vertrieben, setzte sich die Lehre von der Urzeugung um so hartnäckiger in dem einer scharfen Prüfung viel schwieriger zugänglichen Reiche der Kleinlebewesen fest. So sehen wir denn nicht lange nach Leeuwenhoek's Tode den großen Streit darüber entbrennen, ob die in faulenden und gärenden Unterlagen anzutreffenden winzigen Wesen darin auf dem Wege der Urzeugung entstanden, oder aber aus organisirten Keimen von gleicher Art hervorgegangen seien, welche in jene Unterlagen irgendwie von außen hineingelangt waren. Die Gegner der Lehre von der Urzeugung behaupteten das letztere.

Einer der eifrigsten Verfechter der Lehre von der Urzeugung war der anglikanische Geistliche John T. Needham (1), welcher im Jahre

1745 einen Bericht über seine Versuche veröffentlichte. Er hatte verschiedenartige Flüssigkeiten, z. B. einen Aufguß (Infusion) von Fleisch oder eine Abkochung anderer Substanzen, in hermetisch verschlossenen Gefäßen der Einwirkung höherer Temperatur ausgesetzt, sie hierauf einige Tage oder Wochen ruhig stehen lassen und hatte dann nach Eröffnung der Gefäße bemerkt, daß in derart behandelter Infusion nun lebende „Infusorien" vorhanden waren. Da aber, wie er voraussetzen zu dürfen meinte, die Infusion nach dem Erhitzen lebende Keime nicht mehr enthalten hatte, und solche Keime von außen nicht hatten zutreten können, so erachtete er als dargetan, daß hier generatio spontanea eingetreten sein müsse, und erklärte die Lehre von der Urzeugung für richtig und erwiesen. Kein Geringerer als der berühmte Buffon spendete dieser Darlegung seinen Beifall in seinem angesehenen Werke „System der Zeugung".

Von den beiden Voraussetzungen, welche der Needham'schen Folgerung zugrunde liegen, wurde vorerst die zweite auf ihre Stichhaltigkeit geprüft, also jene, welche die Abhaltung der von außen hinzukommenden Keime betrifft. Der Abbate Spallanzani (1) veröffentlichte im Jahre 1765 eine Abhandlung, in welcher die Lehre von der Urzeugung bekämpft wurde. Der italienische Geistliche berichtet darin über Versuche, die zu dem Ergebnis geführt hatten, daß eine Entwicklung der fraglichen „Tierchen" in einer zuvor durch dreiviertel Stunden bei Siedetemperatur gehaltenen Infusion nur dann sich einstellte, wenn man zu ihr hatte Luft zutreten lassen, welche der Gewalt des Feuers zuvor nicht ausgesetzt gewesen war. Diesen Standpunkt hielt Spallanzani auch in seiner zweiten hier zu erwähnenden Abhandlung (2) fest.

Die Anhänger der Lehre von der Urzeugung betrachteten jedoch ihre Sache noch lange nicht als verloren. Sie erklärten diese Versuche für nicht beweiskräftig, denn, so sagten sie, „durch die übermäßige Hitze, die anzuwenden Spallanzani beliebt hat, ist die in den Gefäßen vorhandene Luft so ungünstig verändert und für die Erhaltung des Lebens so untauglich gemacht worden, daß es gar nicht zu wundern ist, daß jegliche Entwicklung ausblieb". Dieser Einwurf wurde zwar von Spallanzani kurzweg zurückgewiesen, seine experimentelle Widerlegung fand er jedoch erst viel später.

Der nächste Schritt auf dem dahinführenden Wege geschah im Jahre 1836 durch Franz Schulze (1). Er beschreibt den von ihm angestellten Versuch wie folgt: „Ich füllte (*Fig. 2*) einen gläsernen Kolben zur Hälfte mit destilliertem Wasser, dem ich verschiedene animalische und vegetabilische Stoffe beigemengt hatte, verschloß ihn hierauf mit einem guten Kork, der von zwei luftdicht in ihn eingepaßten, knieförmig gebogenen Glasröhren durchbohrt war. Hierauf brachte ich ihn in ein Sandbad und erhitzte ihn so lange, bis das Wasser heftig kochte und so alle Teile einer Temperatur von 100° C ausgesetzt waren. Noch während die

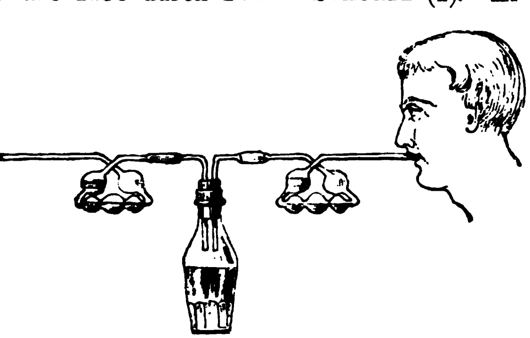


Fig. 2. Versuch von Franz Schulze.

heißen Wasserdämpfe zu den beiden Glasröhren heraustraten, befestigte ich an einer jeden einen Apparat, dessen sich die Chemiker bei organischen Analysen bedienen, um die Kohlensäure zu absorbieren. Der zur Linken war mit konzentrierter Schwefelsäure, der 5 andere mit einer Auflösung von Kalihydrat gefüllt.“ Nachdem dann der Inhalt des Gefäßes wieder abgekühlt war, wurde im Verlauf der folgenden zwei Monate täglich zweimal Luft durchgesaugt, derart, daß sie vor ihrem Eintreten in die Flasche durch die Schwefelsäure streichen mußte. Das Ergebnis entsprach den Erwartungen des Forschers: Nach 10 Eröffnung der Flasche erwies sich der Inhalt frei von lebenden Organismen. Diese traten jedoch alsbald auf, wenn man die geöffnete Flasche frei an der Luft stehen ließ. Damit war bewiesen, daß es nicht unbedingt nötig ist, die Luft vorher der Gewalt des Feuers auszusetzen, wenn man sie untauglich machen will, Gärung oder Fäulnis hervorzurufen.

15 In demselben Jahre 1836 teilte auch THEODOR SCHWANN (1) auf der Versammlung der Naturforscher zu Kassel das Ergebnis gleichgerichteter Versuche mit, 20 bei denen jedoch die „Reinigung“ der Luft nicht durch Waschen, sondern durch Erhitzen in dem an einer Stelle 25 glühend gemachten Zuleitungsrohre bewirkt wurde. Die *Fig. 3* zeigt die Zusammenstellung im Augenblicke des Kochens 30 der Infusion.

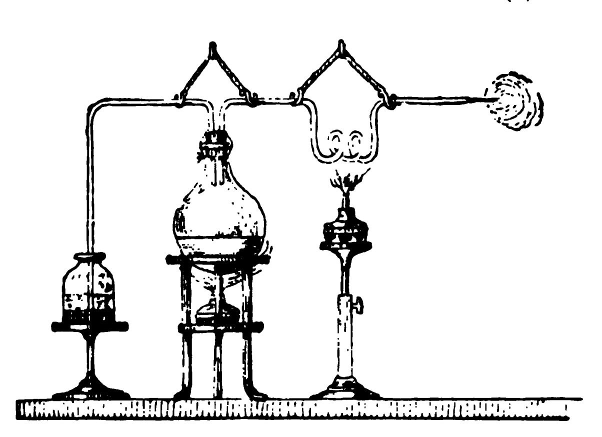


Fig. 3. Versuch von Th. SCHWANN.

Gegen die von SCHWANN gewählte Art der Reinigung der Luft machten die Anhänger der Urzeugung den früher schon gegen SPALLANZANI 35 erhobenen, oben angeführten Einwand geltend. Ja, sie erklärten sich auch nicht durch das Ergebnis des SCHULZE'schen Versuches für widerlegt, sondern behaupteten dagegen, daß auch durch diese (allerdings nicht mehr so gewalttätige) Behandlung die Zusammensetzung der Luft in ungünstigem Sinne verändert worden sei. Die Widerlegung dieses 40 Zweifels erfolgte erst siebzehn Jahre später und zwar durch die Arbeiten von SCHRÖDER und DUSCH (1). Angeregt durch die Versuche von LOEWEL, welcher gefunden hatte, daß man der gewöhnlichen Luft die Eigenschaft, in einer übersättigten Lösung von schwefelsaurem Natron Kristallisation hervorzurufen, dadurch nehmen könne, daß man sie durch Baumwolle 45 filtriert, veränderten die genannten zwei Forscher im Jahre 1853 die SCHULZE'sche Versuchszusammenstellung dahin, daß sie die Luft, bevor sie zu der gekochten Flüssigkeit gelangte, durch eine Glasröhre streichen ließen, welche mit Baumwolle vollgestopft war. Es zeigte sich, daß die gewöhnliche Luft auch durch diese (gewiß nicht „gewalttätige“) Behand- 50 lung die Eigenschaft verlor, in Abkochungen, die ohne ihr Zutreten unverändert blieben, kleine Organismen entstehen zu lassen.

Man darf die Tragweite dieses Befundes nicht überschätzen. Es ist durch nicht weniger aber auch nicht mehr festgestellt als das Eine,

daß in der Luft ein Etwas enthalten ist, das die Fähigkeit hat, in leblosen Nährböden lebende Wesen entstehen zu lassen. Ueber die nähere Beschaffenheit dieses Etwas vermochten die beiden Forscher keine zulängliche Rechenschaft sich zu geben. Ja, sie ließen es sogar unentschieden, ob dieses Etwas gasförmig ist oder nicht. — Warum waren 5 sie so zurückhaltend in ihrem Urteil? Spricht denn nicht die Wirkung des Baumwollfilters dafür, daß dieses Etwas ein fester Körper sein müsse, kein Gas sein könne? — Gewiß! Aber die beiden Forscher hatten demgegenüber auf Versuche hinzuweisen, bei denen die vorher aufgekochten Probeflüssigkeiten hinterher lebende Organismen aufwiesen, 10 obgleich zu ihnen nur solche Luft zugetreten war, welche vorher durch das Baumwollfilter hatte streichen müssen. Als solche Flüssigkeiten hatten sie in ihrer ersten Abhandlung die Milch kennen gelehrt. Dieser wurden in einer zweiten Mitteilung von Schröder (1) noch das Eigelb, das Fleisch und die Fleischbrühe angereiht. Diesen Sustanzen gegen- 15 über schien das Filtrieren der Luft nutzlos zu sein.

Blickt man von hier auf die Schulze'sche Arbeit zurück, so wird man nur zu leicht geneigt werden, das Ergebnis der Versuche von Schröder und Dusch als einen Rückschritt zu betrachten; denn sie haben uns nicht nur über das Wesen der in der Luft enthaltenen Keime 20 einen näheren (über die Schulze'sche Feststellung hinausgehenden) Aufschluß nicht verschafft, sondern stellen sogar die Richtigkeit dieser letzteren selbst wieder in Frage. Und in der Tat, die nachprüfende Wiederholung des von Schulze beschriebenen Experiments, wie sie von mehreren Forschern unter verschiedenartiger Abänderung, insbesondere 25 unter Anwendung verschiedener Probeflüssigkeiten, vorgenommen wurde, war nur eine Bestätigung der Befunde von Schröder und Dusch: In vielen Fällen stellte sich in der gekochten Flüssigkeit auch dann Entwicklung ein, wenn nur gereinigte (geglühte oder filtrierte) Luft hatte zutreten können, in anderen Fällen wieder blieb unter genau den gleichen 30 Bedingungen jede Entwicklung von Organismen aus, die gekochte Probe hielt sich beliebig lange Zeit ungeändert. Und so stand man denn anfangs der sechziger Jahre wieder so ziemlich auf demselben Flecke wie zu Beginn des Jahrhunderts; die Anhänger der Lehre von der Urzeugung waren siegesgewisser als je zuvor. 35

§ 4. Widerlegung der Lehre von der Urzeugung durch Pasteur.

Die zu den gekochten Flüssigkeiten hinzutretende Luft sicher und gewiß von allen Keimen zu befreien — daran hatten die Bemühungen der vorgängigen Forscher sich erschöpft. Ob das gleiche Ziel durch bloßes Aufkochen oder kurz andauerndes Kochen auch in der Probe- 40 flüssigkeit erreicht wurde — darüber fragte sich niemand. Aus der Tatsache, daß alle bis dahin bekannten und daraufhin geprüften Lebewesen (sowohl Tiere als auch Pflanzen) die Siedehitze des Wassers nicht aushielten, selbst dann nicht, wenn diese auch nur kurze Zeit einwirken konnte, wurde die Folgerung gezogen, daß die gleiche Wirkung 45 auch bei den fraglichen kleinen Keimen eintreten werde. Und so war denn männiglich gewiß, daß durch ein kurzes Kochen jegliche Flüssigkeit keimfrei gemacht werden könne. Die Anhänger der Urzeugung sagten es, die Gegner glaubten es. Und doch war dieser Glaube nur ein Vorurteil, wie schon Ch. Bonnet (1), ein Zeitgenosse Spallanzani's, 50

vermutet hatte, welcher in seinem die Lehre von der Urzeugung bekämpfenden Buche die fragende Einwendung erhob: „Ist es denn sicher, daß es keine Tiere oder Eier gibt, welche eine Temperatur gleich derjenigen der heißen Asche ertragen können, ohne dadurch das Leben oder die Fortpflanzungsfähigkeit zu verlieren?“

An diesen Zweifel BONNET's erinnerte sich PASTEUR, als er sich anschickte, die Lehre von der Urzeugung einer experimentellen Prüfung zu unterziehen, wie sie bald darauf, nämlich Januar 1860, auch von der Pariser Akademie der Wissenschaften in Form einer Preisaufgabe verlangt wurde: „zu versuchen, durch wohlgelungene Experimente neues Licht auf die Frage von der Urzeugung zu werfen“. — Aus den Berichten über seine Versuche, wie sie in einer zusammenfassenden, höchst lesenswerten Abhandlung (1) in den ersten Monaten des Jahres 1862 vorlagen, kann hier nur das wichtigste Ergebnis herausgehoben werden, das ist die Feststellung, daß man durch genügend lang andauerndes Erhitzen bei ausreichend hoher Temperatur imstande ist, jedwede Substanz *steril* zu machen, das heißt, von lebenden Keimen zu befreien, und daß eine derart sterilisierte Probe in der Folge nicht in Zersetzung gerät, sich unverändert hält, sofern man dafür sorgt, daß von außen (aus der Luft) lebende Keime zu ihr nicht zutreten.

Den Einwurf der Heterogenisten, daß dann die Zersetzung aus dem Grunde ausbleibe, weil die Probe durch das starke Erhitzen untauglich geworden sei, Keime entstehen zu lassen, konnte PASTEUR dadurch leicht widerlegen, daß er in eben diese Flüssigkeit eine geringe Menge der Keime brachte: sie entwickelten sich darin rasch und üppig. — Die Körperlichkeit dieser Keime hat PASTEUR durch ein sehr schönes Experiment veranschaulicht, für das er ein Kulturgefäß verwendete, welches einem von H. HOFFMANN (1) im Jahre 1860 angegebenen *ähnlich* ist und jetzt gewöhnlich als **Pasteurkolben** bezeichnet wird: ein mit seitlichem, die Beimpfung ermöglichendem Tubulus versehener Glaskolben, dessen Hals dünn ausgezogen und (einem Schwanenhals ähnlich) doppelt gebogen worden ist. Die Außenluft muß, um zu dem sterilisierten Kolbeninhalt zu gelangen, durch diesen Hals hindurchstreichen und lagert in dessen erster Biegung, in welcher sie ihre Bewegungsrichtung ändert, alle Keime ab.

So war nun der Grund geschaffen, auf welchem das Gebäude der Gärungsphysiologie nach und nach in die Höhe wuchs. Der Besitz von völlig keimfreien Nährböden und das Vermögen, sie vor dem Eindringen unberufener Keime zu schützen, ist die unerläßliche Voraussetzung für ein erfolgreiches und vertrauenswürdiges Studium der Gärungsorganismen.

Erst PASTEUR's Arbeiten haben den Streit um die Lehre von der Urzeugung zur Entscheidung gebracht. Was an Meinungen später noch sich für sie erhob, kann nicht als mehr denn ein Rückzugsgefecht einiger Unentwegter gelten. Hierher zu rechnen sind insbesondere die Behauptungen, mit welchen A. BÉCHAMP (1) die Pariser Akademie wiederholt heimgesucht hat. In einem ernsthaften Buche kann von dieser sog. *Mikrozymentheorie* nicht weiter die Rede sein.

Durch PASTEUR's Bemühungen waren die Gegner der Lehre von der Urzeugung endlich auf der ganzen Linie siegreich geworden. „*Omne vivum ex ovo*“, jedes Lebende aus einem Ei, und „*omne vivum ex vivo*“, jedes Lebende aus Lebendem, — das war die Folgerung, welche sie nun aufstellen zu dürfen meinten. Taten sie damit aber recht? —

Widmen wir der Ueberlegung dieser Frage einige Augenblicke kritischer Rückschau und Umschau.

Festgestellt und außer Zweifel gebracht ist das Eine, daß alle Fälle von angeblicher Urzeugung, wie sie von den Anhängern dieser Lehre vorgebracht worden sind, als nicht beweiskräftig — weil mit Fehlern behaftet — befunden worden sind. Festgestellt ist also, daß das Stattfinden von Urzeugung bisher nicht erwiesen worden ist, daß derzeit keine einwurfsfreie Versuchsanstellung bekannt ist, bei welcher belebte Wesen aus unbelebter Substanz hervorgegangen wären. Die Urzeugung ist somit unbewiesen.

Ob sie unmöglich ist — das bleibt noch zu erörtern. Wenn man an der Hand der Entwicklungslehre, wie sie von LAMARCK und DARWIN gegeben worden ist, den Blick folgerichtig nach rückwärts wendet, immer niedrigeren Wesen zu, dann steht man endlich mit der Frage still: Und woher stammen denn jene letzten, niedersten Wesen? — Wie ist organisches Leben überhaupt auf unserem Erdkörper zustande gekommen?

Die Antwort, welche der englische Physiker THOMSON darauf gegeben hat — daß es Meteore waren, welche unsere Mutter Erde in ihrem Jugendzustande befruchtet, Organismenkeime aus fremden Himmelskörpern ihr zugetragen haben — diese Antwort ist keine Lösung, sondern eine Verlegung der Frage auf einen anderen Schauplatz und in eine fernere Vergangenheit, und erregt sofort die Gegenfrage: Und woher stammt das Leben auf jenem unbekannten, außerirdischen Spender schöpferischer Sendboten? Es gibt nur zwei Möglichkeiten der Lösung: die Urzeugung oder das Wunder.

Vernünftigerweise muß man also annehmen, daß zu einem gewissen Zeitpunkte einer früheren Periode die Entstehung organisierter, belebter Wesen aus nicht organisierten, organischen Substanzen stattgefunden habe, ja daß dieser Schöpfungsakt vielleicht auch heute noch sich abspiele. Man kann die Möglichkeit derartiger Belebung nicht bestreiten. Ob aber das Ergebnis dieser ersten Wesenwerdung jene Organismen sein können, welche wir als Bakterien bezeichnen — ist sehr fraglich, ja sogar unwahrscheinlich. Denn der letzeren Aufbau ist noch viel zu kompliziert, als daß er, ohne einfachere Zwischenstufen zu durchlaufen, unmittelbar aus den Ursubstanzen hervorgehen könnte.

Zu der Annahme von dem Bestehen solcher (noch unbekannter) Zwischenstufen, also allerniederster Wesen, ist schon mancher Forscher gelangt, so z. B. auch C. NÄGELI (1). In seinem großen, höchst anregend geschriebenen Werke über die Abstammungslehre — in welchem auch ein schönes Kapitel „Ueber die Grenzen der naturwissenschaftlichen Erkenntnis" enthalten ist — kommt er auch auf die in Rede stehende Frage zu sprechen. Er bezeichnet die vermuteten Verbindungsglieder als Probiën, Vorwesen, weil sie den bisher bekannten Lebewesen noch vorausgehen. Ein solches, durch Urzeugung entstehendes Probion sei „nur ein Tropfen von homogenem Plasma, das bloß aus Albuminaten, ohne Beimengung von anderen Verbindungen als den Nährstoffen, ohne äußere Formbildung und ohne innere Gliederung besteht".

„Man muß annehmen", sagt DE BARY, „daß Organismen einmal von selbst, elternlos, aus organisierbarer aber unorganisierter Substanz entstanden sind. ... Solch primäres Entstehen eines Lebewesens wirklich nachzuweisen, ist von hohem Interesse; es übt jenen mächtigen Reiz auf den Forscher aus, wie auf den Alchemisten die Aussicht auf den

Homunculus in der Phiole. Jahrhundertelange Erfahrung hat aber gezeigt, daß der Homunculus, wo er wirklich erschien, ein kleiner Teufel und heimlich von außen in die Flasche gewitscht war; und im Ernst war es nirgends anders. ... Dem klaren Stand unserer Kenntnisse entspricht also — alle denkbaren *Möglichkeiten* zugegeben — der Erfahrungssatz von der nichtelternlosen Entstehung, und von ihm muß ausgegangen werden in einem Buche, welches sich mit den *reellen* Kenntnissen zu beschäftigen hat."

§ 4. Begründung der vitalistischen Auffassung der Gärungserscheinungen durch Cagniard-Latour, Schwann und Kützing.

Der Wiener Arzt Marcus Antonius Plenciz (1) ist es, von welchem wir die erste Bemerkung darüber haben, daß die als Fäulnis bezeichnete Zersetzungserscheinung das Ergebnis der in der betreffenden Unterlage tätigen Kleinlebewesen sei. Er drückte sich im Jahre 1762 darüber wie folgt aus: „... Ein Körper gerät dann in Fäulnis, wenn Keime wurmartiger Wesen sich zu entwickeln und zu vermehren beginnen; denn diese Tiere geben viele aus flüchtigem Salz bestehende Ausscheidungen von sich, durch welche die Flüssigkeiten getrübt und übelriechend werden." Um Genaueres als diese Vermutung ist zu geben, fehlte es damals noch an zureichenden Kenntnissen auf chemischem und biologischem Gebiete.

Die Vorbedingungen für die Lösung der Frage nach der Art der Verursachung der Gärung waren leichter zu erfüllen als diejenigen für die zuverlässige Entscheidung über die Lehre von der Urzeugung. Letztere Aufgabe erforderte ein Verfahren zur sicheren Abtötung von Keimen in allen Fällen und in jeglicher Unterlage. Dies kann jedoch dann, wenn die Hitze allein und ohne Mithilfe von Stoffen wirken muß, welche bei höherer Temperatur die Organismen stark angreifen, ein recht schwieriges Geschäft sein. Dies ist der Grund, warum Schröder und Dusch bei ihren Versuchen keinen Erfolg hatten, wenn sie dazu Milch verwendeten. In dieser sind eben derartige Giftstoffe nicht vorhanden. Anders ist es bei Weinmost mit dessen hohem Gehalt an Säuren und bei Bierwürze mit deren Gehalt an Hopfenharzen. Diese Flüssigkeiten sind schon durch ein kurz andauerndes Kochen wirklich steril zu bekommen. So ist es zu erklären, daß zwar nicht über die Gärung im allgemeinen und insgesamt, wohl aber über einige Gärungserscheinungen, insbesondere die Alkoholgärung, zuverlässige Feststellungen betreffend deren Verursachung schon zu einer Zeit hatten gemacht werden können, in welcher die Lehre von der Urzeugung noch lange nicht entschieden war.

Einer weit verbreiteten Angabe zufolge soll dem französischen Apotheker Astier (1 u. 2) das Verdienst zukommen, der erste nach Leeuwenhoek gewesen zu sein, welcher der Natur der Hefe seine Aufmerksamkeit zugewendet habe. Eine Durchsicht seiner Veröffentlichungen zeigt jedoch, daß er seine Untersuchung über die Gärung ohne Mithilfe eines Mikroskops angestellt und also auch nichts Tatsächliches über die Natur der Hefe zutage gefördert sondern seine Behauptungen auf unbegründeten Vermutungen aufgebaut hat; was schon im Jahre 1838 von Quevenne (1), allerdings vergebens, betont worden ist.

Auch der zweite der beiden Franzosen, welche man gewöhnlich als

die Vorläufer der Begründer der vitalistischen Gärungstheorie bezeichnet, nämlich Desmazières, kann diesen Titel auf die Dauer sich nicht erhalten. Ebenso wie Astier habe auch er die Rolle erkannt, welche die Hefe bei der Gärung spielt. Auch dieses ist nicht richtig. Desmazières (1) verließ bei seinen Beobachtungen niemals den Standpunkt der rein beschreibenden Naturforschung, und von diesem aus unternahm er auch das Studium der pilzlichen Beläge, welche auf feuchten Unterlagen entstehen. Auf solchem Wege kam er endlich zu den Häutchen, welche sich auf Bier etc. einstellen. Diese zeigten sich aus länglichen Zellen zusammengesetzt, für die er den Namen *Mycoderma cerevisiae* gebrauchte. Weil er an ihnen Eigenbewegung bemerkt zu haben glaubte, erklärte er sie für Tiere (*animalcula monadina*). Auf deren physiologische Eigenschaften, insbesondere deren Einwirkung auf die Unterlage, nahm er, seinen rein beschreibenden Neigungen getreu, keine Rücksicht. Es schmilzt so Desmazières' Verdienst auf die Tatsache zusammen, im Jahre 1826 unter dem Mikroskope in morphologischer Hinsicht hefeähnliche Zellen studiert zu haben, auf welche vier Jahre zuvor schon Persoon deutlich hingewiesen hatte.

Dagegen war ein Oesterreicher, nämlich Christ. Erxleben (1), schon im Jahre 1818 dem Wesen der Gärung näher gekommen. In einem kleinen Büchelchen, welches man als Vorläufer und vielleicht sogar als Vorbild für Balling's „Saccharometrische Bierprobe“ ansehen kann, sagt er: „... weil die Gärung, obwohl bisher immer dafür gehalten, keineswegs eine bloße chemische Operation zu seyn scheint, sondern vielmehr zum Theil als ein Vegetationsproceß, und als das Glied in der großen Kette in der Natur zu betrachten sein dürfte, welches die Wirkungen, die wir chemische Processe nennen, mit der Vegetation in Verbindung setzt....“ Erxleben war Praktiker und hat diese Frage nicht weiter verfolgt. So ist es zu erklären und auch zu bedauern, daß nicht schon durch ihn sondern erst ungefähr 20 Jahre später die Feststellung zustande kam, daß die (alkoholische) Gärung mit dem Leben (lateinisch *vita*) gewisser Organismen ursächlich verknüpft ist. Es geschah dies fast gleichzeitig durch drei unabhängig voneinander arbeitende Forscher: Cagniard-Latour (1777—1859) in Frankreich und Theodor Schwann (1810—1882) und Friedrich Kützing (1807—1893) in Deutschland.

Verschieden war der Weg, auf welchem diese drei Männer zu dem Punkte kamen, an dem sie schließlich zusammentrafen. Der erstgenannte vielseitige französische Techniker ist der Mehrheit der Gebildeten dem Namen nach durch die von ihm erfundene und in der Tonlehre vorteilhaft verwendete Sirene nicht unbekannt. Er hat seine Aufmerksamkeit aber auch der Brauerei zugewendet und ein Werk über die Gärung des Bieres verfaßt. Die Vorstudien dazu veranlaßten ihn, auch der Natur der „Hefe“ näher zu treten, über die man damals, ungeachtet der Bemerkungen seiner zuvor genannten zwei Landsleute, eigentlich nichts wußte. Leeuwenhoek's Entdeckung schien in Vergessenheit geraten zu sein. Cagniard studierte diese Masse nun mit Hilfe des Mikroskops und legte das Ergebnis seiner Beobachtungen zuerst (1) am 23. November 1836 in „L'Institut“ und dann am 12. Juni 1837 der Pariser Akademie in einer kurzen Zuschrift (2) vor, deren Hauptsätze die folgenden sind:

> „1. Die Bierhefe ist aus kleinen Kügelchen zusammengesetzt, welche die Fähigkeit haben, sich zu vermehren, die also organisierte Wesen sind und nicht eine tote chemische Substanz, so wie man bisher angenommen hat.“

„2. Diese Körperchen scheinen dem Pflanzenreiche anzugehören und sich auf zweierlei Weise fortzupflanzen.“

„3. Sie scheinen auf eine Zuckerlösung nur so lange zu wirken, als sie lebendig sind; woraus man mit vieler Wahrscheinlichkeit schließen kann, daß durch deren Lebenstätigkeit die Kohlensäure entbunden und die Zuckerlösung in eine alkoholische Flüssigkeit umgewandelt wird.“

Wie die gesperrt gedruckten Worte der vorstehenden Zeilen dieses Mémoire schon erkennen lassen und wie aus einer genaueren Durchsicht der ersten Abhandlung noch deutlicher hervorgeht, hat Cagniard die pflanzliche Natur der Hefe noch nicht außer allen Zweifel gestellt. Dieses auszuführen und dann diesem Organismus den ihm zukommenden Platz im botanischen System anzuweisen, war Gegenstand einer Abhandlung welche Schwann (1) in der ersten Hälfte des Jahres 1837, also gleichzeitig mit Cagniard's Mémoire und ohne von diesem Kenntnis zu haben, veröffentlichte. In Verfolgung des Ergebnisses seiner Versuche über die Urzeugung (S. 8) hatte er die Bierhefe studiert und hatte bemerkt, daß die einzelnen Kügelchen, in welche das Mikroskop diese Masse auflöste, häufig zu kettenförmigen, oft seitlich verzweigten Verbänden vereinigt waren und dem Auge ein Bild darboten, welches mit manchen damals schon etwas näher gekannten mehrzelligen Pilzen große Aehnlichkeit hatte. Dieser Befund war es übrigens nicht allein, wodurch Schwann veranlaßt wurde, diese Gebilde als Pflanzen zu erklären, vielmehr sprach dafür auch die durch ihn studierte Art, wie jene sich vermehren. Zu diesem Zwecke treibt ein solches Kügelchen aus sich selbst eine kleine Ausstülpung hervor, deren Anwachsen zur normalen Größe Schwann verfolgen konnte. „Die Beobachtung ihres Wachsens läßt aber über ihre Natur als Pflanzen keinen Zweifel, denn auf solche Art vermehren sich tierische Wesen nicht.“ Mit der steigenden Lebhaftigkeit der Gärung hielt die Geschwindigkeit der Vermehrung dieser Kügelchen Schritt, so daß Schwann zu der Ansicht kam, es sei höchst wahrscheinlich, daß durch deren Entwicklung die Gärung veranlaßt werde. „Die Weingärung wird man sich demnach so vorstellen müssen, als diejenige Zersetzung, welche dadurch hervorgebracht wird, daß der Zuckerpilz dem Zucker und einem stickstoffhaltigen Körper die zu seiner Ernährung und zu seinem Wachstum notwendigen Stoffe entzieht, wobei die nicht in die Pflanze übergehenden Elemente dieser Körper (wahrscheinlich unter anderen Stoffen) vorzugsweise sich zu Alkohol verbinden.“ Schwann setzte von dieser Entdeckung seinen Freund und Fachgenossen Prof. Meyen (1) in Kenntnis. Dieser überprüfte und bestätigte sie und „äußerte sich dahin, daß man nur zweifelhaft sein könne, ob man es mehr mit einer Alge oder mit einem Fadenpilz zu tun habe, welch letzteres ihm wegen des Mangels an grünem Pigment richtiger schien“. So wurde denn die Hefe als Pilz erklärt und wegen ihrer Fähigkeit, den Zucker zu vergären, als Zuckerpilz benannt, und damit war der Gattungsname geschaffen, der seitdem in Geltung geblieben ist: *Saccharomyces* Meyen. Noch schärfer kennzeichnete Schwann (2) seinen Standpunkt dann im Jahre 1839 auf Grund des Ergebnisses neuer Versuche, durch welche er auch festgestellt hatte, daß „die Gärung durch alle Einwirkungen aufhört, wodurch nachweisbar die Pilze getötet werden, namentlich Siedehitze, arsenichtsaures Kali etc.“ Er ist so auch als der Begründer der Lehre von der **Antisepsis**, also der Keimtötung durch Gifte, anzusehen.

Diesen beiden Forschern gleichwertig reiht sich FRIEDRICH KÜTZING (1) an und teilt mit ihnen den Ruhm. Mit den Darlegungen jener beiden ungefähr gleichzeitig veröffentlicht, jedoch schon beträchtlich früher (vor 1834) abgefaßt, übertrifft KÜTZING's Abhandlung (1) die anderen sogar noch durch größere Weite des Kreises der Erscheinungen, welche sie der Betrachtung unterzieht. KÜTZING hat seine Beobachtungen auf die Alkoholgärung nicht beschränkt, sondern vielmehr eine Reihe anderer, ähnlicher Erscheinungen vergleichend herangezogen und mit jener unter einen gemeinsamen Gesichtspunkt gebracht. Muß er das Verdienst der Entdeckung der organisierten Struktur der Hefe mit anderen teilen — dasjenige gehört ihm ungeschmälert allein, die pflanzliche Natur der Essigmutter festgestellt und deren Wirkungsart erkannt zu haben. Diesen beiden Entdeckungen reihte er noch eine Anzahl kleinerer, weniger wichtiger an, so z. B. die physiologische Begründung der von SCHEELE angegebenen Methode, Gallussäure dadurch zu gewinnen, daß man eine Lösung von Pyrogallussäure (z. B. Galläpfelabkochung) schimmeln läßt. Die mannigfaltigen Erscheinungen, die er uns vorführt, sind ebensoviele Hinweise auf die Lehre, daß die Gärung nicht als ein rein chemischer Prozeß aufgefaßt werden kann: „Es ist bekannt, daß die Chemie die weinige Gärung durch die Einwirkung des sog. Klebers auf das Amylon und den Zucker erklärt; ich muß aufrichtig gestehen, daß ich mir durch diese Erklärung den Vorgang nicht deutlich machen kann. Ob andere glücklicher darin sind, möchte ich bezweifeln. Sicher hängt aber der ganze Prozeß bei der geistigen Gärung von der Bildung der Hefe und bei der sauren von der Bildung der Essigmutter ab.... Mit dem größeren Anwuchse dieser Organismen vermehrt sich auch der Vervielfältigungstrieb und mit diesem nimmt zugleich die Einwirkung auf die vorhandene Flüssigkeit zu.... Insofern nun Gärung gleichbedeutend ist mit einer gegenseitigen Wirkung sich erzeugender, organischer und anorganischer Gebilde auf die Bestandteile einer gegebenen Flüssigkeit, die in bezug auf das organische Produkt als Nahrungsmittel betrachtet werden kann, so ist sie auch notwendig gleichbedeutend mit jedem organischen Lebensprozeß. Daher **organisches Leben = Gärung.** Jene Prozesse dagegen, welche die Essigbildung aus Alkohol mittels Platinmohr oder auf andere, diesem ähnliche Weise einleiten, können nicht mit der Gärung verglichen werden, sie sind rein chemische Prozesse, während die Gärung ein organisch-chemischer Prozeß, wie der Lebensprozeß eines jeden organischen Körpers ist.“ —

Eines der drei Mitglieder des Comité, welches beauftragt war, der Pariser Académie des sciences über das ihr vorgelegte Mémoire von CAGNIARD zu berichten, nämlich Herr TURPIN (1), hat diese Gelegenheit sich nicht entgehen lassen, die Arbeit seines genialen Landsmannes experimentell breit zu treten und diese neuen „Befunde“ mit den Feststellungen von SCHWANN und von KÜTZING zu verquicken, wodurch ein Buchdruckerstück zustande kam, das mehr Seiten umfaßt als LATOUR's Mitteilung Zeilen aufweist und das dennoch unser Wissen um keines Zolles Breite weiter gebracht hat. TURPIN scheint jedoch sein Publikum gut taxiert zu haben, denn bis heute noch wird er von vielen als einer der Begründer der vitalistischen Gärungslehre gepriesen. —

Durch jene Versuche SCHWANN's, in denen eine vorher gekochte Nährlösung nicht in Zersetzung geriet, wenn zu ihr in der Folge nur geglühte Luft zutreten konnte, war auch die durch GAY-LUSSAC (1) im Jahre 1810 ausgesprochene Meinung widerlegt, daß der Sauerstoff der Luft es

sei, welcher die Gärung (und die Fäulnis) in Gang setze. Die Haltlosigkeit dieser Behauptung wurde dann im Jahre 1843 noch durch besondere Versuche, mit denen HELMHOLTZ (1) sich bemühte, dargetan. Eine nicht ausreichend vorsichtig unternommene Wiederholung dieser Versuche führte 5 im Jahre 1847 O. DÖPPING und H. STRUVE (1) zu einem abweichenden aber wegen jenes Mangels nicht weiter in Betracht kommenden Schlusse.

§ 5. Festigung der vitalistischen Auffassung der Gärungsvorgänge durch Pasteur.

Die durch CAGNIARD-LATOUR, SCHWANN und KÜTZING begründete 10 Auffassung der Gärungsvorgänge als Wirkung der Lebenstätigkeit gewisser Organismen erfuhr alsbald heftige Anfechtung durch LIEBIG, welcher die Gärung als eine rein chemische Zersetzung erklärte und nicht gelten lassen wollte, daß sie durch die Tätigkeit organisierter Wesen zustande komme.

15 Will man dadurch nicht zu einer unbilligen Beurteilung dieses Chemikers sich verleiten lassen, so muß man das Zeitalter berücksichtigen, in welchem diese Theorie entstand. Die organisch-synthetische Chemie war eben begründet worden. Elf Jahre zuvor (1828) hatte WÖHLER den Harnstoff künstlich dargestellt, zum Erstaunen der Mitwelt, die es 20 bis dahin für unmöglich gehalten hatte, organische Verbindungen, welche Produkte des Lebensprozesses des Tierkörpers oder aber der Pflanze sind, auf künstlichem Wege hervorzubringen. Organische Substanz könne ohne Mitwirken der „Lebenskraft" nicht entstehen — das war bis dahin feste Meinung gewesen. Dieses Dogma zu stürzen und dagegen zu be-25 weisen, daß man imstande sei, auch ohne die Mithilfe der „Lebenskraft" jede beliebige organische Verbindung darzustellen, das war das Bestreben der Mehrheit der Chemiker der damaligen Zeit. Und in dieser Schar war LIEBIG einer der vordersten, der tüchtigsten und hartnäckigsten. Und so wird es uns nicht mehr wundern, ihn trotz CAGNIARD-LATOUR, 30 KÜTZING und SCHWANN eine Gärungstheorie aufstellen zu sehen, in der für die Tätigkeit von Lebewesen kein Platz, von deren Lebenskraft keine Rede war.

Den Kampf gegen diese, ihm so ungelegen kommende Lehre jener drei Physiologen eröffnete er im Jahre 1839 mit einer (anonymen) Ab-35 handlung (1), als deren Verfasser aber von Manchen LIEBIG's Freund WÖHLER bezeichnet wird, in welcher die neuen Beobachtungen der Mikroskopiker mit höchst belustigendem Spotte überschüttet wurden. Ein Jahr darauf folgte dann der Ernst in dem Werke: „Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie", welches 40 auf S. 202—299 die neue Theorie gibt. Wie bereits erwähnt, ist sie mit jener verwandt, welche vor mehr als hundert Jahren von STAHL ausgesprochen worden war.

LIEBIG faßt alle Gärung als molekulare Bewegung auf, welche ein in chemischer Bewegung, d. h. in Zersetzung, befindlicher Körper auf 45 andere Stoffe überträgt, deren Elemente nicht sehr fest zusammenhängen. Zwischen der Gärung (im engeren Sinne) und der Fäulnis bestehe folgender Unterschied. Bei der letzteren, der Fäulnis, werde die Zersetzung durch das sich zersetzende Fäulnismaterial (nämlich die Eiweißstoffe) selbst übertragen, so daß die einmal begonnene Fäulnis durch 50 eigene Bewegung auch dann noch fortdauere, wenn die Ursache, welche

dazu den Anstoß gegeben habe, unwirksam geworden sei. Anders sei es bei der Gärung. Bei dieser könne der in Zersetzung begriffene Körper (Zucker) die Bewegung auf noch unzersetzte Substanz nicht übertragen, dies müsse vielmehr durch eine fremde Ursache geschehen, durch ein Ferment, das somit in diesem Falle nicht bloß zur Einleitung (wie bei der Fäulnis), sondern auch zur Unterhaltung der Zersetzung notwendig sei.

Man muß zugestehen, daß diese Definition sowie die Unterscheidung von Gärung und (Eiweiß-)Fäulnis für den ersten Augenblick sehr gewinnend ist. Sie hält jedoch strenger Kritik nicht stand. Sprechen wir zunächst von dem Merkmal, durch welches Gärung und (Eiweiß-)Fäulnis sich unterscheiden sollen, nämlich daß erstere, die Gärung, ohne die Gegenwart des Fermentes nicht verlaufe, während hingegen die Fäulnis, wenn einmal eingeleitet, von selbst weiter um sich greife, des Fermentes dann nicht mehr bedürfe. Der Grund, welcher LIEBIG zu dieser Unterscheidung veranlaßte, ist leicht zu erkennen. Bei der Vergärung der Bierwürze — und diese hat LIEBIG gewöhnlich im Auge, wenn er von Gärung spricht — nahm man das Ferment (die Bierhefe) auch mit freiem Auge wahr und wußte aus Erfahrung, daß ohne dieses Ferment die Gärung nicht gut durchzuführen sei. Hingegen konnte man nicht ohne weiteres jene kleinen Lebewesen bemerken, welche, wie wir nun heute wissen, in die der Fäulnis zugänglichen eiweißreichen Stoffe sich einschleichen und sie zersetzen, ohne daß es dabei in der Regel zu einer so beträchtlichen, auch schon dem Laienauge auffälligen Vermehrung sich absetzenden „Fermentes" kommt, wie dies bei der Alkoholgärung der Fall ist. Die Hefe ist also für die Durchführung der Gärung auch nach LIEBIG's Ansicht unentbehrlich. Nur wurde dieses Ferment zu einer bloßen Eiweißsubstanz degradiert.

Die Haltlosigkeit der Voraussetzungen, auf welche diese Theorie sich zu stützen suchte, in ihren Einzelheiten auch jenen ad oculos zu demonstrieren, welche, wie z. B. auch HOPPE-SEYLER (1), durch die Darlegungen von CAGNIARD, KÜTZING und SCHWANN noch nicht hatten überzeugt werden können, war eine dankbare Aufgabe, welche PASTEUR aufgegriffen und mit großem experimentellen Geschick einer erfolgreichen Erledigung zugeführt hat.

Von verschiedenen Seiten her rückte PASTEUR dem Kernpunkt der Frage nahe. Wenn er sich dabei im Anfang noch wenig bestimmter Ausdrücke bedient, wenn er von „Infusorien" redet und dabei Bakterien meint, oder wenn er das Wort Hefe für Gärungserreger überhaupt gebraucht, also auch für solche Organismen, welche wir heute als Bakterien ansprechen, so vermag dies doch nicht die Größe der ihm zu zollenden Anerkennung zu beeinträchtigen. Solcher Terminologie hatte sich ja auch NÄGELI (2) noch im Jahre 1879 bedient. Schon mit seiner ersten Abhandlung, welche am 30. November 1857 der Pariser Akademie vorgelegt wurde, erweitert PASTEUR (2) das Feld des nun heftig einsetzenden Kampfes. Sie hat die Entstehung von Milchsäure aus Zucker zum Gegenstande und zeigt, daß dieser Vorgang als Ergebnis der Tätigkeit organisierter Wesen aufzufassen sei. Er stützt diese Ansicht in den darauf folgenden zwei Jahren durch weitere drei Abhandlungen (3, 4, 5). Im selben Jahre mit jener ersten Darlegung weist er (6) nach, daß bei der Alkoholgärung die Hefe einen Teil der ihr gebotenen Zuckermenge nicht zu Alkohol und Kohlensäure zerlegt, sondern für die Zwecke ihrer Vermehrung verarbeitet. Dies war der erste Hauptschlag

gegen LIEBIG's Theorie, welche von ihrem Standpunkte aus diese nun festgestellte Tatsache nicht befriedigend zu erklären vermochte. Die Deutung der Alkoholgärung als eines Lebensvorganges stützt PASTEUR (7) dann im Jahre 1858 durch den Nachweis, daß in der gärenden zucker- 5 haltigen Nährlösung sich auch Bernsteinsäure bilde, welcher bald darauf (8) das Glycerin als zweites Nebenprodukt der Alkoholgärung angereiht wird. Daß hingegen die Milchsäure nicht zu den normalen Produkten der Alkoholgärung zählt und daß also der Erreger dieser Zersetzungserscheinung wohl verschieden von demjenigen der Alkoholgärung sein 10 müsse, legt er (9) darauf dar. Im selben Jahre 1858 führt PASTEUR (10) noch einen zweiten Hauptschlag gegen LIEBIG's Auffassung der Hefe als leblosen Eiweißkörper, indem er zeigt, daß man durch Zusatz von weinsaurem Ammon zur gärenden Flüssigkeit die spaltende Tätigkeit der Hefe sehr merklich anregen und deren Vermehrung fördern könne. Im 15 darauf folgenden Jahre führt PASTEUR (11 u. 12) noch einige ergänzende Bemerkungen an und faßt seine bisherigen Ergebnisse kurz zusammen (13). Sie werden dann im Jahre 1860 in einer größeren Abhandlung (14) eingehend dargelegt.

LIEBIG wurde so mit seiner Behauptung immer mehr und mehr in 20 die Enge getrieben und schränkte sie nach und nach ein. Man kann dies durch Vergleichung der aufeinanderfolgenden Auflagen sowohl des oben (S. 16) angeführten Werkes als auch der „Chemischen Briefe“ gut erkennen. Dennoch verhielt er bis zuletzt, in seiner Abhandlung (2) aus den Jahren 1868 und 1869, sich ablehnend. Eine Hauptursache 25 dieses uns heute fast sonderbar anmutenden Vorgehens ist in dieses Chemikers Geringschätzung mikroskopischer Forschung zu suchen, welcher er in dem berühmtgewordenen Satze Ausdruck verlieh, daß „man Ursachen auch mit dem Mikroskope nicht sehen“ könne. Er ließ sich in diesem Punkte, wie man aus einer Bemerkung NÄGELI's (2) entnehmen 30 kann, keines Besseren belehren.

In einer verdienstlichen geschichtlichen Studie hat COSMAS INGENKAMP (1) es gerügt und durch Belegstellen erwiesen, daß PASTEUR (1) in seiner Abhandlung aus dem Jahre 1862 eine „Nebelwolke zwischen die Verdienste SCHWANN's und die seinigen“ gezogen und gesagt hat, 35 letzterer habe nur festgestellt, daß Fäulnis und Weingärung durch „ein unbekanntes Etwas“ zustande komme, welches durch Hitze zerstört werde. Dieser Vorhalt ist leider berechtigt, doch geht INGENKAMP zu weit, wenn er sein Urteil über PASTEUR's Verdienste um diese Frage dahin zusammenfaßt, daß PASTEUR die „in ihren Grundzügen fertige 40 Lehre (SCHWANN's) .... in eleganter Weise aufnahm und weiter entwickelte“. Nein, so lag die Sache zu Beginn der Wirksamkeit PASTEUR's nicht. Begründet war die vitalistische Auffassung der Gärung und Fäulnis allerdings schon durch CAGNIARD-LATOUR, SCHWANN und (den wieder von INGENKAMP ganz übersehenen) KÜTZING worden. Jedoch 45 möge man nicht vergessen, daß eine einwandfreie Erweisung dieser Ansicht in ihrem weitesten Umfange die absolute Sicherheit der Herstellung keimfreier Nährböden jeglicher Art und nicht bloß einiger günstig zusammengesetzter, wie Most und Würze, zur Voraussetzung hat. Diese letztere hat jedoch erst PASTEUR zu erfüllen vermocht. Welche Ver- 50 wirrung der Mangel daran herbeigeführt hat, kann man ja an der im vorhergehenden Paragraphen angeführten Meinung von SCHRÖDER und DUSCH aus dem Jahre 1859 betreffend die Natur des gärungserregenden Agens wie auch an der im § 6 anzuführenden Abhandlung M. TRAUBE's

aus dem Jahre 1858 ermessen. An dem gleichen Mangel scheiterten auch die von J. H. van der Broek (1) und H. Hoffmann (1) in den Jahren 1858—1860 angestellten Versuche. Die Wahrheit ist, daß jene Lehre, welche durch Cagniard-Latour, Schwann und Kützing begründet und mit einem hohen Grad von Wahrscheinlichkeit an einigen besonderen 5 Beispielen vorgetragen wurde, ihre strenge, einwurffreie und zudem auf einen viel weiteren Kreis von Erscheinungen ausgedehnte Erweisung erst durch Pasteur erfahren hat. Daß dieses Verdienst viel geringer ausgefallen wäre, wenn Liebig es unterlassen hätte, auf dem ihm fremden Gebiete der Gärungserscheinungen sich zu betätigen, darf aller- 10 dings nicht vergessen werden.

§ 6. Die Gärungserscheinungen als Wirkungen von Enzymen der Gärungsorganismen.

Den Kampf gegen Liebig's Meinung mußte Pasteur hauptsächlich auf dem Gebiete der Alkoholgärung führen. Er beschränkte jedoch 15 seine Aufmerksamkeit nicht auf diese, sondern trat nach und nach noch an eine Reihe anderer Erscheinungen heran, von denen wir einige überhaupt erst durch ihn haben kennen gelernt. Die durch Kützing als physiologischen Vorgang angesprochene Essigsäuregärung studierte Pasteur (15) näher und gab im Jahre 1864 den strengen Beweis für 20 die Richtigkeit der Ansicht seines Vorgängers. Viel wichtiger noch war die im Jahre 1861 durch ihn (16) gemachte Feststellung, daß der milchsaure Kalk eine Gärung durchmachen kann, durch welche er in das buttersaure Salz umgewandelt wird, und daß der Erreger dieser Buttersäuregärung, über welchen an anderer Stelle dieses Handbuches 25 ausführliche Angaben zu finden sind, die bis dahin an keinerlei Lebewesen bemerkte Eigenschaft aufwies, bei Abwesenheit von Luft am Leben bleiben zu können. Dieser hochwichtigen Beobachtung reihte er (17) zwei Jahre später eine ähnliche zweite an. Sie betraf die Gärung des weinsauren Kalkes, über welche er (18) übrigens schon im 30 Jahre 1858 eine Mitteilung gemacht hatte. Dadurch war der Biologie eine neue Erscheinung, das Leben ohne Luft, die **Anaerobiose,** eingereiht worden, über welche der sechste Abschnitt des vorliegenden ersten Bandes das Nähere besagen wird.

Die zunächst an jenen zwei und später noch an anderen Fällen er- 35 kannte Tatsache des Bestehens von Zelleben und Stoffumsatz bei Ausschluß von Luft führte Pasteur (19), nachdem er an der Hefe ein gleiches Verhalten bemerkt zu haben glaubte, dann im Jahre 1876 zu der Aufstellung des Satzes: **„Gärung ist Leben ohne Luft“.** Der Mangel an freiem Sauerstoff sei es, welcher die Organismen zur Gär- 40 tätigkeit veranlasse. Durch sie werde nun jene Menge von Spannkraft ausgelöst, welche andernfalls durch das Eingreifen dieses Gases zur Verfügung gestellt würde. Dieser Auffassung des Wesens der Gärung muß man Originalität und Bedeutsamkeit zuerkennen, jedoch darf man nicht vergessen, daß sie nur auf einen engen Kreis von Erscheinungen 45 Anwendung finden kann, so daß also dann viele andere Erscheinungen fürderhin nicht mehr als Gärungsvorgänge (im Sinne dieser Auffassung Pasteur's) bezeichnet werden dürfen. Dies gilt z. B. von der Essigsäuregärung, welche ohne Zutritt von Sauerstoff gar nicht sich abspielen kann. Aber auch andere Zersetzungen, wie z. B. die Milchsäuregärung, 50

würden dadurch aus der Reihe der Gärungserscheinungen ausscheiden. Der Charakter einer allgemeinen Deutung wohnt also PASTEUR's Auffassung nicht inne. Ja es verläuft sogar die von diesem Forscher selbst als Beleg hingestellte Alkoholgärung, wie spätere Ueberprüfung durch
5 andere Forscher hat erkennen lassen, bei Luftzutritt gewiß nicht weniger gut als bei Ausschluß von freiem Sauerstoff. Darüber wird im vierten Bande dieses Handbuches noch mehr zu sagen sein. Jedoch für die Deutung der nur unter letzterer Bedingung sich abspielenden Zersetzungsvorgänge (Buttersäuregärung, Cellulosegärung etc.) kann PASTEUR's
10 energetische Auffassung auch heute noch, allerdings mit einiger Einschränkung, als die allein in Betracht kommende erklärt werden.

Einen vermittelnden Standpunkt zwischen LIEBIG's Meinung und PASTEUR's vitalistischer Auffassung nahm C. NÄGELI (2) ein. Jener hatte dem „Gärerreger“, welchen er nur als unbelebte, eiweißartige, in
15 Zerfall begriffene Substanz gelten lassen wollte, die Aufgabe zugeteilt, der Ausgang von Molekularschwingungen zu sein, durch welche das labile Gleichgewicht der Moleküle spaltbarer anderer Substanzen gestört und diese so zum Zerfallen gebracht würden. NÄGELI nun hielt an der durch PASTEUR gemachten Feststellung der organisierten Natur der
20 Gärerreger fest, behauptete jedoch, daß die durch diese letzteren zustande kommende Gärwirkung nicht, wie dies in PASTEUR's Auffassung liegt, innerhalb der tätigen Zellen sich abspiele, sondern daß diese letzteren die Ausgangsstellen zersetzender Kräfte seien, welche dann nach außen vorschreitend dort erst spaltend sich betätigen. NÄGELI
25 verlieh dieser **molekular-physikalischen Theorie der Gärung** im Jahre 1879 mit folgenden Worten Ausdruck: „Gärung ist demnach die Uebertragung von Bewegungszuständen der Moleküle, Atomgruppen und Atome verschiedener, das lebende Plasma zusammensetzender Verbindungen (welche hierbei chemisch unverändert bleiben) auf das Gärmaterial, wo-
30 durch das Gleichgewicht in dessen Molekülen gestört und dieselben zum Zerfalle gebracht werden.“ Den Radius der Wirkungssphäre z. B. der Hefenzelle schätzte NÄGELI zu 20—50 μ. Den Nachweis der Richtigkeit seiner Ansicht hat NÄGELI jedoch nicht zu erbringen vermocht. Die zu deren Stütze auf Grund der Beobachtungen anderer Forscher
35 angestellten Berechnungen haben sich als recht hinfällig erwiesen. Man sehe z. B. die daran durch ADOLF MAYER (1) geübte Kritik ein.

Inzwischen hatte sich aber schon nach und nach jene Auffassung vorbereitet, welche heute die allein annehmbare zu sein scheint, das ist die sog. Enzym-Theorie. Die schon lange bekannte Erscheinung, daß
40 zerkleinerte, bittere Mandeln bei Berührung mit Wasser alsbald nach Blausäure riechen, war im Jahre 1830 durch ROBIQUET und BOUTRON-CHALARD (1) auf den Zerfall der darin enthaltenen und als Amygdalin bezeichneten Substanz zurückgeführt worden. Als Verursacher dieser Spaltung erkannten und beschrieben im Jahre 1837 dann LIEBIG und
45 WÖHLER (1) einen eiweißartigen Bestandteil der Mandeln, welchem sie den Namen Emulsin gaben. Inzwischen war auf einem anderen Gebiete der physiologischen Chemie ein Gegenstück dazu aufgefunden worden. Ausgehend von den durch KIRCHHOFF im Jahre 1812 angestellten Beobachtungen über die Vorgänge bei der Verzuckerung der Stärke durch
50 Malz war DUBRUNFAUT (1) in den Jahren 1819—1830 durch neue Beobachtungen zu der Ansicht gekommen, daß diese Umwandlung auf der Wirksamkeit einer im Malze vorhandenen Substanz beruhe. Diese wurde dann im Jahre 1833 durch PAYEN und PERSOZ (1), welche ihres

Landsmannes Versuche im wesentlichen wiederholt hatten, Diastase benannt. Drei Jahre darauf zeigte SCHWANN (3), in Fortführung der von SPALLANZANI angestellten Untersuchungen über die verdauende Tätigkeit des Magens, daß dieser letztere eine eiweißspaltende Substanz ausscheide, für welche er den Namen Pepsin vorschlug. 5

Ihrer Fähigkeit nach, chemische Umsetzungen hervorzurufen, waren diese drei neuen Körper im Sinne des überkommenen Sprachgebrauchs als Fermente zu bezeichnen. Gemeinsam waren ihnen hauptsächlich zwei Eigenschaften, erstens, schon in äußerst geringer Menge eine sehr große Menge der betreffenden spaltbaren Körper zum Zerfall zu bringen, 10 und zweitens, durch Erhitzen ihr Wirkungsvermögen dauernd und unwiederbringlich einzubüßen. Die gleichen Merkmale kamen auch den bald darauf in ihrer Wirksamkeit zum ersten Male durch SCHWANN, CAGNIARD-LATOUR und KÜTZING genauer erkannten, gärungserregenden Mikroorganismen zu. Kein Wunder also, daß man diesen letzteren nun 15 den Charakter von Lebewesen absprechen zu dürfen meinte und sie eben nur als ungeformte chemische Substanzen organischer Natur gelten lassen wollte. Solche Meinung sprach z. B. auch BERTHELOT (1) im Jahre 1857 aus. Und ebenso wie angeblich jene sollten auch diese sich durch Katalyse, wie BERZELIUS im Jahre 1839 sagte, durch 20 Contaktwirkung, wie MITSCHERLICH im Jahre 1841 sich ausdrückte, betätigen. Als sie dann dank den Bemühungen PASTEUR's endgültig als organisierte Wesen anerkannt wurden, entstand das Bedürfnis, der Verschiedenartigkeit dieser beiden Gruppen auch durch besondere Namensgebung gerecht zu werden: die letzteren hießen fortan **geformte Fer-** 25 **mente**, hingegen erhielten die in Rede stehenden ungeformten, nicht organisierten Zersetzungserreger durch KÜHNE die Sammelbezeichnung **Enzyme.**

Von diesen letzteren kennen wir heute eine recht große Anzahl. Deren Betrachtung als solche kann nicht Gegenstand dieser Einleitung 30 sein und darf um so mehr unterbleiben, als der Leser jede erwünschte Belehrung in den Spezialwerken über **Enzymologie** finden kann. Das älteste von diesen hat ADOLF MAYER (2) zum Verfasser. Neuere Werke sind in deutscher Sprache durch C. OPPENHEIMER (1), in englischer Sprache durch GREEN (1) und in französischer Sprache durch 35 E. BOURQUELOT (1) und, für ein beschränktes Gebiet, durch J. EFFRONT (1) geliefert worden. In dem vorliegenden Handbuche werden nur jene Enzyme in Betracht kommen, welche durch technisch wichtige Pilze hervorgebracht werden. Die Einzelheiten darüber sind an den betreffenden Stellen einzusehen. Eine allgemeine Uebersicht wird aber 40 schon der dritte Abschnitt vorliegenden Bandes bringen.

Nachdem so an einer Reihe anderer Umsetzungserscheinungen gewisse Enzyme als das eigentlich Treibende erkannt waren, lag es nahe, auch die Gärungserscheinungen als Wirkungen von Enzymen aufzufassen, welche in den Gärungsorganismen entstehen und bei Verfügbarkeit von 45 spaltbarer Substanz ihre Tätigkeit entfalten. Die erste Anregung zu solcher Art der Auffassung des Wesens der Gärung, welche man gewöhnlich als **Enzymtheorie** bezeichnet, ist zuerst durch M. TRAUBE (1) im Jahre 1858 gegeben worden. Als mehr denn eine (allerdings sehr erfolgreiche) Anregung kann jedoch dessen Abhandlung nicht gelten. Wer 50 solche Bewertung für zu gering erachten sollte, sei z. B. auf nachfolgenden Satz darin verwiesen: „175. Was liegt also näher, als die völlige Umkehrung der SCHWANN'schen Hypothese, daß Fäulnis und Gärung nicht

von Lebenstätigkeiten abhängen, sondern umgekehrt, daß die chemischen Vorgänge in den lebenden Organismen hauptsächlich in der Fähigkeit der Proteinstoffe ihren Ursprung suchen, sich mit Wasser zu zersetzen und unter den hier gegebenen eigentümlichen Bedingungen auch eigentümliche Fermente zu erzeugen?“ — Doch der Gedanke an und für sich war gut. Er fand nicht bloß beifällige Aufnahme bei den Chemikern, so z. B. auch bei G. Hüfner (1) im Jahre 1872, sondern auch experimentelle Prüfung und Verfolgung durch die Mikrobiologen. Die erste Stütze ist dieser Art der Auffassung der Gärungsvorgänge wohl im Jahre 1890 durch P. Miquel (1) geliefert worden, als dieser Forscher dartun konnte, daß die Spaltung des Harnstoffes durch die von ihm untersuchten Erreger der ammoniakalischen Harngärung auf die Tätigkeit eines von diesen hervorgebrachten und *Urase* genannten Enzymes zurückzuführen sei. Der entscheidende Beweis wurde auf dem Gebiete der Alkoholgärung im Jahre 1897 durch Ed. Buchner (1) erbracht, als er zu zeigen vermochte, daß aus zertrümmerten Hefenzellen ein Saft sich gewinnen lasse, welcher die Fähigkeit habe, den Zucker in Kohlensäure und Alkohol zu spalten. Das in diesem Safte bei Ausschluß von Zellen wirksame und später aus ihm (allerdings nicht rein) abgeschiedene Enzym der Alkoholgärung erhielt den Namen *Zymase* oder auch *Alkoholase*. Im vierten Bande ist darüber ausführlich die Rede.

Durch den Nachweis solcher Enzyme in einer Anzahl von Arten von Gärungsorganismen und durch die Feststellung, daß jene auch ohne die Zelle („zellfreie Gärung“) und deren Stoffwechsel die betreffende Gärungserscheinung zustande zu bringen und zu vollziehen vermögen, ist die streng vitalistische Auffassung der Gärungserscheinungen eingeengt und berichtigt worden. Diese sind also nicht, wie diese letztere Deutungsweise annahm, der Ausdruck des Gesamtstoffwechsels der Gärungsorganismen, sondern sind das Ergebnis der Wirkung eines bestimmten einzelnen Bestandteiles der Zellen und können auch ohne diese selbst in all jenen Fällen hervorgerufen werden, in denen es gelingt, das spaltende Enzym in wirkungsfähigem Zustande abzuscheiden und für sich allein zur Tätigkeit zu bringen. Darüber wird das Nähere an den einzelnen Stellen dieses Handbuches zu sagen sein.

§ 7. Umgrenzung des Begriffes Gärung nach dem heutigen Sprachgebrauche. Stellung der Gärungsorganismen im naturhistorischen Systeme.

Die Schwierigkeit einer Umgrenzung des Begriffes Gärung war schon, wie im ersten Paragraphen angegeben worden ist, durch Stahl betont worden. Sie ist durch die seitdem angestellten Forschungen immer größer geworden, und ist ohne einige Willkür gar nicht zu überwinden. Einen Schritt zur Lösung dieser Frage hatte Stahl selbst zu tun gemeint, indem er den Begriff Fäulnis als den allgemeineren hinstellte, welchem der weniger allgemeine Begriff Gärung unterstellt werden könnte. Er war dazu durch die Beobachtung geführt worden, daß auf die als Gärung bezeichnete Erscheinung gewöhnlich die Fäulnis folgte, so daß jene erstere die Vorstufe zu letzterer sei: „... so würde leichtlich gezeiget werden können, daß die Fäulung vielmehr als eine allgemeinere Behandlung anzusehen, unter welcher sich die Gärung als eine bloße Gattung derselben befindet...“.

Der ursprüngliche Sinn des Wortes Gärung in seiner Beschränkung auf Vorgänge, durch welche erst gewisse Nahrungsmittel (Most, Quark, Essig etc.) oder Gebrauchsgegenstände organischer Natur (Tierhäute, Küpen, Dünger etc.) durch innere Umsetzung für ihre besonderen Zwecke tauglich werden, wurde schon durch die Alchemisten verflacht. Darüber ist im ersten Paragraphen eine Bemerkung gemacht worden. Als dann die Mikroorganismen entdeckt wurden und als nachgewiesen werden konnte, daß sie es sind, welche die in Rede stehenden Umwandlungen bewirken, wurde es nach und nach Gebrauch, all jene an Gegenständen organischer Natur sich einstellenden Zersetzungserscheinungen, welche durch solche Kräfte zustande kommen, als Gärung zu bezeichnen. Damit entfiel auch von selbst der prinzipielle Unterschied zwischen den zwei Begriffen Gärung und Fäulnis. Vom Standpunkt der Oekonomik aus bewertet, besteht er allerdings auch heute noch in dem zu Anfang des § 1 gekennzeichneten Sinne. Im Sprachgebrauche der Biologen hat der Begriff Fäulnis eine engere Begrenzung erfahren, so zwar, daß die von Stahl aufgestellte Rangordnung jetzt umgekehrt worden ist, und wir, wenn wir von Fäulnis kurzweg reden, gewöhnlich die Proteinfäulnis, also jene besonderen Fälle der Zersetzungswirkung durch Mikroorganismen meinen, in welchen eiweißartige Körper der Hauptgegenstand der abbauenden Tätigkeit sind. Eine scharfe Unterscheidung läßt sich jedoch auch hier nicht treffen. Denn einerseits ziehen auch die Erreger der als eigentliche Gärungen im engeren Sinne bezeichneten Umsetzungen, von noch zu besprechenden Ausnahmsfällen abgesehen, eine mehr oder minder große Menge der vorhandenen Eiweißstoffe für ihre Zwecke heran und bauen sie ab. Und andrerseits begnügen sich die Erreger eigentlicher Fäulnis nicht mit den Eiweißstoffen allein, sondern beanspruchen und zersetzen auch noch andere Bestandteile des Nährbodens. Wenn man jedoch eine kleine Willkür in der Beurteilung walten und gelten lassen will, kann man auch heute noch, wie es auch tatsächlich gewöhnlich geschieht, von Fäulnis (d. h. Proteinfäulnis) im besonderen reden. Im Bereiche der Biologie wird es allerdings das beste sein, den allgemeineren Ausdruck Gärung vorzuziehen und sich, wenn man den Ausdruck Fäulnis gebraucht, stets gegenwärtig zu halten, es hier nur mit einem besonderen Falle zu tun zu haben.

Seit der Neubelebung der biologischen Forschung auf dem Gebiete der Gärungserscheinungen durch Pasteur ist die Anzahl der als solche erkannten und auf Verlauf und auf Art der Erreger studierten Zersetzungen stark angewachsen. Damit steigerte sich aber immer mehr die Schwierigkeit der Zusammenfassung und Deutung all dieser Vorgänge unter einem gemeinsamen Gesichtspunkte. Daß die durch Pasteur selbst gegebene Bestimmung des Begriffes Gärung dazu am wenigsten taugt, ist ja schon im § 6 bemerkt worden. Denn wenn man sie als entscheidend erachten wollte, müßten die meisten gerade derjenigen Erscheinungen auf die Bezeichnung Gärung verzichten, welche die ältest bekannten und der gewöhnliche Ausgang für die Forschung gewesen sind, wie die Essigsäuregärung, die Milchsäuregärung, aber auch die Alkoholgärung u. a. Von dieser praktisch nicht annehmbaren Deutungsart also abgesehen, verstand man bis vor wenigen Jahren, ohne daß dies jedoch jemals deutlich gesagt worden wäre, unter **Gärung** (einschließlich Fäulnis) solche Zersetzungserscheinungen, in welchen unbelebte organische Substanzen durch die Tätigkeit gewisser Arten aus der Gruppe der niederen Pilze derart zersetzt werden, daß weder die der Spaltung unter-

worfene Substanz noch auch die daraus hervorgehenden Spaltprodukte für die Zwecke des Zellaufbaues in größerem Ausmaße herangezogen werden. Durch letzteres Merkmal ist die Abgrenzung gegen jene anderen Erscheinungen zu ziehen versucht, welche als wahre und eigentliche Er-
5 nährungsvorgänge gelten. Diese ohnehin sehr weite und wenig scharfe Begriffsbestimmung hat jedoch in den letzten zwei Jahrzehnten des verflossenen Jahrhunderts noch eine weitere Ausdehnung durch die Entdeckung und Klarlegung der Wirksamkeit jener Bakterien erfahren, deren Haupttätigkeit, nach der Quantität bewertet, sich gar nicht an
10 organischen, sondern an unorganischen Substanzen abspielt, das sind die Schwefelbakterien, die Eisenbakterien, die nitrifizierenden Bakterien und im gewissen Sinne auch die stickstoffbindenden Bakterien. Die durch diese Organismen zustande kommenden Umsetzungen haben mit jenen ersteren Gärungen der bisherigen Auffassung das eine Merkmal gemein-
15 sam, daß sie das Ergebnis der Tätigkeit niederer Pilze sind. Man hat sie darum dem Begriffe Gärung unterstellt, aus dessen oben gegebener Umgrenzung dadurch aber notgedrungen die bisherige Forderung, daß die den Gegenstand der eigentlichen Gärwirkung bildende Substanz organischer Natur sei, entfallen muß.
20 Das Schwergewicht dieser Umgrenzung des Begriffes **Gärung** (einschließlich Fäulnis) liegt in dem zweiten Merkmale, also in der Festsetzung, daß es sich dabei nur um solche Vorgänge handle, welche durch die Tätigkeit von gewissen niederen Pilzen sich abspielen. Es mußte so bald auch das Bestreben sich geltend machen, für jede einzelne Art
25 von Gärung den ihr eigentümlichen Erreger aufzufinden und darzutun, daß er von den Erregern anderer Umsetzungen verschieden sei. Die dadurch begründete **Lehre von den spezifischen Gärungserregern,** wie sie schon im Jahre 1837 durch Kützing in einer angesichts der damals bei anderen Forschern herrschenden Nebelhaftigkeit der Auffassung um so
30 mehr anzuerkennenden Schärfe ausgesprochen wurde, ist dann durch Pasteur eifrig ausgebaut und insbesondere in einer Arbeit (4) aus dem Jahre 1859 dargelegt worden. Weil die Zuchten, welche er zu seinen Versuchen verwendete, noch nicht absolute Reinzuchten im heutigen Sinne waren, denn dazu fehlte es damals noch an zuverlässigen Ver-
35 fahren, so konnte Pasteur zu nicht mehr als der (allerdings hochwichtigen) Feststellung gelangen, daß z. B. die Milchsäuregärung gewiß durch andere Erreger durchgeführt werde, als diejenigen der Essigsäuregärung seien, daß von diesen und von jenen wieder die Erreger der Gärung des weinsauren Kalkes verschieden seien, daß die Buttersäure-
40 gärung wieder durch andere Wesen zustande komme u. s. f. Als dann später Verbesserungen in den Verfahren zur Reinzüchtung gemacht worden waren, ließ sich die Fragestellung verfeinern. Pasteur hatte nur Gruppenunterschiede aufstellen können und hatte dementsprechend kurzweg von dem Erreger der Essigsäuregärung, von dem Erreger der
45 Buttersäuregärung u. s. f. gesprochen. Jetzt nun konnte man daran gehen, zu prüfen, ob ein einzelner dieser Zersetzungsvorgänge vielleicht durch verschiedenartige Organismen durchgeführt werden könne, verschiedenartig in dem Sinne, daß sie zwar in dem Hauptcharakter der Zersetzung, welche sie erregten und nach welcher sie den gemeinsamen
50 Gruppennamen trugen, übereinstimmten, jedoch Abweichungen in Art und Menge der Nebenprodukte wie auch in bezug auf Morphologie etc. aufwiesen. So vermochte E. Ch. Hansen (1) schon im Jahre 1878 darzutun, daß die Essigsäuregärung durch mindestens zweierlei Arten von Bakterien

erregt werden könne. Fast gleichzeitig machte P. MIQUEL (2) eine ähnliche Feststellung auf dem Gebiete der Harnstoffgärung. Im Jahre 1883 erwies E. CH. HANSEN (2) solches für das Gebiet der Alkoholgärung durch Hefen, von welchen er eine reiche Anzahl von wohl bestimmten Arten uns kennen gelehrt hat. Ein Jahr darauf zeigte F. HUEPPE (1), daß auch die Buttersäuregärung durch mehr als bloß eine Art von Erregern zustande kommen könne, u. s. f. Durch diese und durch ähnliche andere Feststellungen war nicht nur das Arbeitsgebiet der Biologie vertieft, sondern auch der Praxis der Gärungstechnik ein neues Ziel und vielversprechende Verbesserung der Betriebsführung gegeben worden. Denn nun trat hier die Aufgabe in den Vordergrund, den für den einzelnen Fall tauglichsten Gärerreger aufzufinden und dafür zu sorgen, daß er, vor Störung durch andere weniger geeignete oder sogar schädliche Mitbewerber so weit als tunlich bewahrt, ganz allein die gewünschte Zersetzung besorge. Ueber Ausführung und Nutzen der Anwendung rein gezüchteter, ausgewählter Gärerreger, also das sog. **Reinzuchtsystem,** wird in den folgenden vier Bänden eingehend zu sprechen sein. In betreff der Alkoholgärungsgewerbe ist hauptsächlich der fünfte Band einzusehen.

Durch die an einer Anzahl von Beispielen erbrachte und im vorhergehenden Paragraphen kurz besprochene Nachweisung, daß die betreffenden Gärungserscheinungen nicht als Ausdruck des Gesamtlebens sondern als Wirkung eines bestimmten Bestandteiles der Gärungserreger aufzufassen seien, haben diese letzteren durchaus nicht an Wichtigkeit eingebüßt, sondern sind nur von einem anderen Standpunkte aus zu betrachten: sie sind die Hervorbringer des spaltenden Enzyms. Dessen Entstehen aber ist an das Leben und den guten Verlauf des Stoffwechsels der Zellen unlösbar geknüpft. Die hier sich geltend machende Abhängigkeit zu erforschen, ist Aufgabe der Gärungsphysiologie und der Mykologie. Aber auch die Praxis der Gärungstechnik wird nach wie vor mit den Gärungserregern selbst sich abzufinden haben. Sogar dann, wenn es, wozu heute noch keine große Hoffnung besteht, dereinst gelingen sollte, für die Vollziehung der Gärungen die Enzyme selbst in Anwendung zu bringen, werden doch diese aus den Gärungserregern zu gewinnen und so letztere im großen zu züchten sein. Es wird deshalb auch unter dieser (heute noch utopistischen) Voraussetzung die Kenntnis der Entwicklungsbedingungen und Lebensäusserungen der Gärungsorganismen für die Praxis unerläßlich und unabweislich bleiben. Daß diese Organismen alle in die Gruppe der Pilze gehören, ist schon gesagt worden.

Das Studium der Pilzkunde oder Mykologie kann von mehreren Standpunkten aus betrieben werden. Den rein wissenschaftlichen nimmt der Botaniker ein, der jeder einzelnen Art soviel an Bedeutung zuerkennt, als sie in Ansehung ihrer Morphologie und Physiologie in Anspruch nehmen kann. Macht man jedoch zum Gradmesser des Interesses die Bedeutung, welche den einzelnen Arten der Pilze für das praktische Leben zukommt, treibt man also Angewandte Mykologie, dann verringert sich die Zahl der zu berücksichtigenden Arten.

Ist der Gegenstand, welcher der pilzlichen Beeinflussung unterliegt, ein belebtes Wesen, also ein Tier oder eine Pflanze, so wird es dadurch in einen Zustand versetzt, den man ganz allgemein als Krankheit bezeichnet. Pilze, welche derartige Befähigung haben, nennt man pathogen. Sie sind Gegenstand der Pathologischen Mykologie

Diese sondert sich wieder in zwei Unterabteilungen und zwar je nach dem Naturreiche, welchem der von den Pilzen befallene Organismus angehört: ist es ein Tier oder der Mensch, so befaßt sich damit die Medizinisch-pathologische Mykologie; ist es eine Pflanze, so gehört der Fall der Phytopathologischen Mykologie zu. Eine durch Spaltpilze bewirkte Erkrankung pflegt man als Bakteriosis, eine durch höhere Pilze hervorgerufene Erkrankung als Mykosis (im engeren Sinne) zu bezeichnen. Hingegen ist die durch Pilze bewirkte und als Zersetzung sich äußernde erwünschte Beeinflussung unbelebter Objekte, z. B. Milch, Würze, Essig, Dünger, Leder, Küpe u. s. f., oder aber die Ausschließung der schädlichen Wirkung von Pilzen auf solche Unterlagen (Konservierung etc.) Gegenstand der **Technischen Mykologie.**

Wie wohl jedem Leser bekannt ist, zerfällt das Reich der **Kryptogamen,** welches alle blütenlosen Pflanzen umfaßt, in drei Hauptabteilungen oder in sieben Klassen, nämlich:

	Hauptabteilung	Klassen
Cryptogamae	I. *Thallophyta*, Lagerpflanzen, ohne Blätter, Stengel, Wurzeln und Gefäßbündel	1. Kl.: *Fungi*, Pilze, chlorophyllfrei 2. Kl.: *Algae*, Algen, chlorophyllhältig
	II. *Bryophyta*, Moose, mit Blättern und Stengeln ohne echte Wurzeln u. Gefäßbündel	3. Kl.: *Hepatinae*, Lebermoose 4. Kl.: *Musci*, Laubmoose
	III. *Pteridophyta*, Gefäßkryptogamen mit Blättern, Stengeln, echten Wurzeln und Gefäßbündeln	5. Kl.: *Equisetinae*, Schachtelhalme 6. Kl.: *Lycopodinae*, Bärlappe 7. Kl.: *Filicinae*, Farne

In die erste dieser drei Hauptabteilungen gehören alle jene Pflanzen, welche man als **Thallophyten,** Lagerpflanzen, bezeichnet, weil bei ihnen eine Gliederung in Stengel, Blätter u. s. f. noch nicht vorhanden ist und das Einzelwesen in einer vergleichsweise einfacheren Gestalt auftritt, welche man **Thallus,** Lager, nennt. Diese Abteilung zerfällt in die beiden Klassen der Pilze und der Algen.

Der Körper aller übrigen Pflanzen, von den Moosen an aufwärts, zeigt dagegen eine Gliederung in Stamm und Blatt und wird als **Cormus** bezeichnet. Die **Cormophyten** oder Stammpflanzen sind also das Gegenstück zu den Lagerpflanzen.

Von den sieben Klassen, in welche man die Kryptogamen einteilt, kommt für uns nur eine in Betracht, das ist die erste und niederste, nämlich die der **Pilze** oder **Fungi.** Diese sind, wie aus dem Schema hervorgeht, so zu definieren: die Pilze sind kryptogame, chlorophyllfreie Pflanzen ohne Wurzeln, Stengel, Blätter und Gefäßbündel; oder kürzer: Pilze sind chlorophyllfreie Thallusgewächse. Ueber die Beziehungen der Pilze zu der ihnen nächststehenden Klasse der Algen wird das 6. Kapitel vorliegenden Bandes einige Bemerkungen bringen.

Die Art des Wachstums des einzelnen Individuums zum Einteilungsgrund machend, scheidet man die Pilze in zwei Hauptgruppen, nämlich in **Schizomyceten** oder Spaltpilze und **Eumyceten** oder höhere Pilze. Die letzteren bestehen im allgemeinen aus fadenförmigen Zellen, vergrößern sich durch Spitzenwachstum, bilden echte Verzweigungen und vermehren sich durch besondere Organe, die man Sporen nennt. Hingegen geschieht bei den Spaltpilzen die Vermehrung des (ausnahmslos einzelligen) Individuums durch Zweiteilung, durch Spaltung, wie schon der Name besagt. — Somit ergibt sich folgendes Schema:

Fungi (Pilze)
- *Schizomycetes*: Zweiteilung, Spaltung. (Spaltpilze).
- *Eumycetes*: Spitzenwachstum, echte Verzweigung. (höhere Pilze).

Für die vorstehend gegebene Einteilung der Thallophyten in die zwei Klassen der Algen und der Pilze war ein rein physiologisches Merkmal entscheidend, nämlich das Vorkommen oder das Fehlen von Chlorophyll. Hingegen ergibt sich vom Standpunkte der Entwicklungsgeschichte aus betrachtet eine andere Zusammenstellung. Offenkundige Verwandtschaftsbeziehungen führen zu einer Vereinigung der Schizomyceten mit der niedersten der Ordnungen der Klasse der Algen, nämlich den Spaltalgen, zu einer neuen Klasse, den Schizophyta, welch letztere dann als niederste der Thallophyten den höher organisierten Algen und den Eumyceten vorausgehen, das Reich der Pflanzen überhaupt eröffnen. Das 6. Kapitel dieses Bandes wird in seinem § 32 über diese Beziehungen noch Näheres besagen. Für den Aufgabenbereich einer technischen Mykologie kommt jedoch dieser (in botanischer Hinsicht allerdings hochwichtigen) Frage nach der Verwandtschaft der einzelnen Gruppen des Reiches der Pilze mit anderen Gruppen des Reiches der Pflanzen nicht viel praktische Bedeutsamkeit zu. Gleichgiltig wie die Entscheidung ausfallen möge, werden wir es hier eben mit den Schizomyceten und den Eumyceten, und nur mit diesen allein, zu tun haben.

Mit der Morphologie der Schizomyceten befaßt sich der unmittelbar folgende erste Abschnitt. An diesen schließt sich im zweiten Abschnitt die Besprechung der allgemeinen Morphologie der Eumyceten an. Hingegen wird die Darlegung des chemischen Aufbaues, der Physiologie der Ernährung und der Beeinflussung durch äußere Reize für Schizomyceten und Eumyceten gemeinsam gegeben und zwar je im dritten, vierten und fünften Abschnitte dieses Bandes.

Literatur
zur Einleitung.

*Astier, Charles Benoit, (1) Ann. de chim., **1813**, Bd. 87, S. 27. (2) Journal des propriétaires ruraux pour le midi de la France, Bd. XVII. — *Béchamp, A., (1) Les Mikrozymas dans leurs rapports avec l'hétérogénie, l'histogénie, la physiologie et la pathologie. Paris **1883**. — *Bonnet, Charles, (1) Considérations sur les corps organisés. Amsterdam et Paris **1762**. — *Bourquelot, Émile, (1) Les Ferments solubles. Paris **1896**. — *van den Broek, J. H., (1) Liebig's Ann., **1860**, Bd. 115, S. 75. — *Buchner, Eduard, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., **1897**, Bd. 30, S. 117. — *Cagniard-Latour, Charles, (1) L'Institut, Nr. 158, 159 u. f. (2) Comptes rend. de l'Ac., **1837**, Bd. 4, S. 905. — *Ausführlicher in Ann. de chim. et de phys., **1838**, Bd. 68, S. 206. — *Desmazières, (1) Annales des sciences naturelles, **1826**, Bd. 10, S. 42. — *Deutsches Wörterbuch von Jakob und Wilhelm Grimm. Leipzig **1878**, Bd. 4. — *Döpping, O., und Struve, H., (1) J. f. prakt. Chem., **1847**, Bd. 41, S. 255. — *Dubrunfaut, (1) Moniteur scientifique, **1880**. Referiert in Z. f. d. ges. Brauwesen, **1880**, Bd. 3, S. 99. — *Effront, Jean. (1) Les enzymes et leurs applications. Paris **1899**. — *Erxleben, Christ. Polykarp Friedrich, (1) Ueber Güte und Stärke des Biers und die Mittel, diese Eigenschaften richtig zu würdigen. Prag **1818**, S. 69. — *Gay-Lussac, Louis Joseph, (1) Ann. de chim., **1810**, Bd. 76, S. 247. — *Green, J. Reynolds, (1) Die Enzyme. Deutsch v. W. Windisch. Berlin **1901**. — *Hansen, Emil Christian, (1) Comptes rendus de Carlsberg. **1879**, Bd. 1, S. 96. (2) Ebenda. **1883**, Bd. 2, S. 13. — *Helmholtz, Herm. Ludw., (1) Joh. Müller's Archiv f. Anat., Physiol. u. wiss. Medizin, **1843**, Bd. 10, S. 453. — *Hoffmann, Hermann, (1) Bot. Ztg., **1860**, Bd. 18, S. 49. — *Hoppe-Seyler, Felix, (1) Physiolog. Chemie. Berlin **1881**, S. 115. — *Hüfner, G., (1) J. f. prakt. Chem., **1872**, Bd. 5, S. 372. — *Hueppe, Ferd., (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt, **1884**, Bd. 2, S. 309. — *Ingenkamp, Cosmas, (1) Z. f. klin. Medizin, **1886**, Bd. 10, S. 59 u. 101. — *Kopp, Her-

MANN, (1) Geschichte der Chemie. Braunschweig 1843—1847, Bd. 4, S. 286. — *KÜTZING, FRIEDR. TRAUGOTT, (1) J. f. prakt. Chem., 1837, Bd. 11. S. 385. — LIEBIG, JUSTUS, (1) Liebig's Ann., 1839, Bd. 29, S. 100 (Anonym). (2) Ebenda. 1870, Bd. 153, S. 1 u. 137. — *LIEBIG und WÖHLER, (1) Liebig's Ann., 1837, Bd. 22, S. 1. — *LOEFFLER, FRIEDR., (1) Vorlesungen ü. d. geschichtl. Entwicklung d. Lehre v. d. Bakterien. Leipzig 1887, S. 6. — *MAYER, ADOLF, (1) Z. f. Biologie, 1882, Bd. 18, S. 522. (2) Die Lehre v. d. chem. Fermenten. 1. Aufl. Heidelberg 1882. — *MEYEN, (1) Wiegmann's Archiv f. Naturgeschichte, 1838, Bd. 4, S. 100. — *MIQUEL, PIERRE, (1) Comptes rend. le l'Ac., 1890, Bd. 111, S. 397. (2) Bulletin Soc. chimique de Paris, 1878, Bd. 29, S. 387 und 1879, Bd. 31, S. 391. — *NÄGELI, C. VON, (1) Mechanisch-physiolog. Theorie d. Abstammungslehre. München 1884. (2) Theorie der Gärung. München 1879. — *OPPENHEIMER, CARL, (1) Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1900. — PASTEUR, LOUIS, (1) Ann. de chem. et de phys., 1862, Bd. 64, S. 6. (2) Comptes rend. de l'Ac., 1857, Bd. 45, S. 913. (3) Ebenda. 1858, Bd. 47, S. 224. (4) Ebenda. 1859, Bd. 48, S. 337. (5) Ebenda. 1859, Bd. 48, S. 1149. (6) Ebenda. 1857, Bd. 45, S. 1032. (7) Ebenda. 1858, Bd. 46, S. 179. (8) Ebenda. 1858, Bd. 46, S. 857. (9) Ebenda. 1858, Bd. 47, S. 224. (10) Ebenda. 1858, Bd. 47, S. 1011. (11) Ebenda. 1859, Bd. 48, S. 640. (12) Ebenda. 1859, Bd. 48, S. 735. (13) Ebenda. 1859, Bd. 48, S. 1149. (14) Ann. de chim. et de phys., 1860. 3. Ser., Bd. 58, S. 323. (15) Annales scientifiques de l'Ecole normale supérieure. Paris 1864. (16) Comptes rend. de l'Ac., 1861, Bd. 52, S. 344 u 1260. (17) Ebenda. 1863, Bd. 56, S. 416. (18) Ebenda. 1858, Bd. 46, S. 615. (19) Etudes sur la bière. Paris 1876. — *PAYEN et PERSOZ, (1) Ann. de chim. et de phys., 1833, Bd. 53, S. 73. — *PETRI, R. J, (1) Das Mikroskop. Berlin 1896. — *PLENCIZ, MARCUS ANTONIUS, (1) Opera medico-physica. Vindobonae 1762. — *QUEVENNE, T. A., (1) Journal de Pharmacie, 1838, Bd. 24, S. 265 u. 329. — *ROBIQUET et BOUTRON-CHALARD, (1) Ann. de chim. et de phys., 1830, 2 Ser., Bd. 44, S. 352. - *SCHWANN, THEODOR, (1) Poggendorff's Ann., 1837, Bd. 41. S. 184. (2) Mikroskop. Untersuchungen ü. d. Uebereinstimmung in d. Textur u. d. Wachstum d. Tiere u. Pflanzen. Berlin 1839, S. 235. (3) Joh. Müller's Archiv f. Anatomie u. Physiologie, 1836, Bd. 3, S. 90. — *SPALLANZANI, LAZZARO, (1) Saggio di osservazioni microscopiche, relative al sistema della generazione dei Signori Needham e Buffon. Modena 1765. (2) Opuscoli di fisica animale e vegetabile. Modena 1776. Deutsch von DONNDORF. Leipzig 1779. — *STAHL, GEORG ERNST, (1) Zymotechnia fundamentalis oder Allgemeine Grund-Erkänntnis der Gährungs-Kunst etc. Wegen ihres unbeschreiblichen Nutzens aus dem Lateinischen ins Teutsche übersetzt Stettin und Leipzig 1748. — *TRAUBE, MORITZ, (1) Theorie der Fermentwirkungen. Berlin 1858.

Erster Abschnitt.

Allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Schizomyceten.

Von Dr. W. MIGULA,
Professor an der Technischen Hochschule zu Karlsruhe. 5

(*Manuskript-Einlauf: 24. Nov. 1903.*)

1. Kapitel.

Allgemeine Morphologie und Entwicklungsgeschichte.

§ 8. Wuchsgestalten.

Die sämtlichen bisher bekannten Bakterien sind durchaus einzellige Wesen, d. h. innerhalb einer einzigen Zelle spielen sich alle Lebens- 10 prozesse ab. Bleiben auch die Zellen nach der Teilung oft zu verschiedenartigen Verbänden vereinigt, so sind doch alle Glieder eines solchen Verbandes einander gleichwertig und voneinander unabhängig. Ebenso sind auch die Zellen, die einer Art angehören, von den später zu besprechenden Ausnahmen abgesehen, in der Form einander gleich. 15

Die äußere Gestalt der Bakterien ist sehr einförmig; es sind nur **3 Grundtypen der Zellformen** bei ihnen vorhanden: Kugeln, Stäbchen, Schrauben (*Fig. 4*). Im einzelnen kann dabei freilich eine gewisse Mannigfaltigkeit dadurch zustande kommen, daß bei den kugelförmigen Bakterien der Durchmesser, bei den Stäbchen die Länge, Dicke und 20 Beschaffenheit der Enden, bei den Schrauben außerdem noch die Art der Windung beträchtlich verschieden sein kann. Indessen ist die Zahl der bekannten Bakterienarten so groß, daß die möglichen Verschiedenheiten in der äußeren Form bei so einfach gebauten Organismen bei weitem nicht ausreichen, um eine Unterscheidung zu ermöglichen. Dies ist über- 25 haupt schon deshalb nicht leicht, weil es eine große Anzahl Bakterienarten gibt, bei denen man im Zweifel sein kann, welcher der drei Wuchsformen sie zuzurechnen seien.

Die Kugelform, deren Vertreter man als Kugelbakterien, Coccaceen, bezeichnet, zeigt nämlich in gewissen Entwicklungsstadien durchaus nicht 30 das Bild einer vollkommenen Kugel, so daß man glauben könnte ein kurzes Stäbchen vor sich zu haben, und andrerseits gibt es Stäbchen, die

so kurz sind, daß sie, besonders gleich nach der Trennung zweier Tochterzellen, Kokken vortäuschen können. In den weitaus meisten Fällen wird allerdings eine genaue Untersuchung mit den stärksten verwendbaren Vergrößerungen zuverlässigen Aufschluß geben. Bei den Kugelbakterien, 5 auch wenn sie infolge nicht deutlich erkennbarer Teilungsvorgänge in

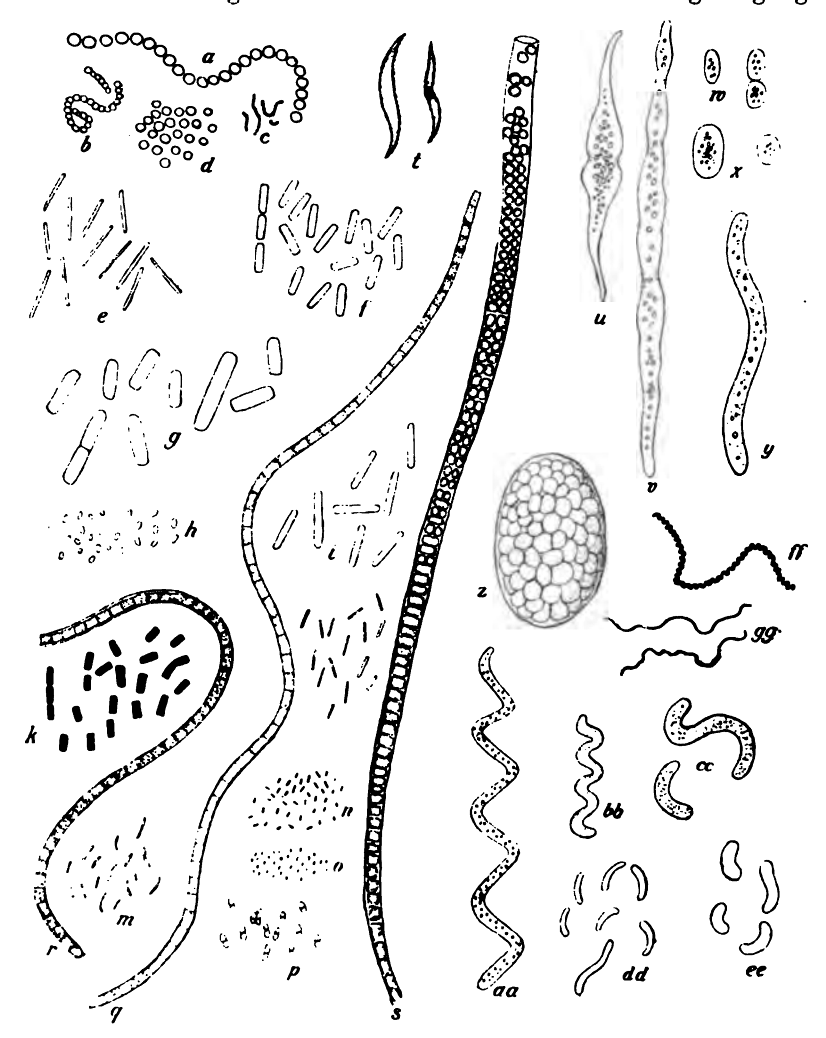


Fig. 4. Formen der Bakterien.
a Streptococcus citreus Henrici. *b* Streptococcus sputigenus. *c* Streptococcus Sphagni. *d* Micrococcus pyogenes. *e* Bacillus spiralis. *f* Bacillus cereus. *g* Bacillus oxalaticus. *h* Bacillus ethacetosuccinicus. *i* Bacillus vulgatus. *k* Bacterium anthracis, gefärbt und in Canadabalsam eingeschlossen, die scharf abgestutzten Enden zeigend. *l* Pseudomonas tenuis. *m* Bacterium tuberculosis. *n* Bacterium murisepticum. *o* Bacterium Influenzae. *p* Bacterium pneumoniae. *q* Faden des Bacterium anthracis vor der Sporenbildung. *r* Teilweise in der Scheide steckender Faden einer Chlamydothrix. *s* Crenothrix Kühniana. *t* Spiromonas Cohnii. *u* Rhabdochromatium fusiforme. *v* Rhabdochromatium roseum. *w* Chromatium Weisii. *x* Chromatium Okenii. *y* Thiospirillum jenense. *z* Achromatium. *aa* Spirillum volutans. *bb* Spirillum Kutscheri. *cc* Spirillum undula. *dd* Microspira comma. *ee* Microspira gigantea. *ff* Spirochaete plicatilis. *gg* Spirochaete Obermeieri. — Vergrößerung 1000.

Form kurzer Stäbchen auftreten sollten, sind die als Längsseiten erscheinenden Zellwände *niemals auch nur auf kurze Strecken vollständig parallel*, bei den Stäbchen ist dies, mögen sie sonst noch so kokkenähnlich sein, stets wenigstens auf eine kurze Strecke deutlich der Fall. Außerdem findet man bei letzteren bei der Durchmusterung einer größeren Anzahl Zellen stets einzelne, an welchen die Stäbchenform deutlicher erkennbar ist.

Zwischen Stäbchenbakterien und Schraubenbakterien sind ebenfalls oft schwer erkennbare Grenzen gezogen. Sehr viele Stäbchen sind niemals völlig gerade, zeigen leichte Biegungen oder Knickungen, die als Krümmung erscheinen können. Andrerseits sind viele Schraubenbakterien sehr flach gekrümmt, die einzelnen Zellen stellen nur Teile eines Schraubenumganges dar, so daß sie oft nur einem kaum merklich gekrümmten Stäbchen gleichen. Auch hier läßt sich aber durch eine eingehende Untersuchung mit Sicherheit entscheiden, ob es sich um Stäbchenbakterien oder Schraubenbakterien handelt.

Bei allen Stäbchen- oder Schraubenbakterien findet man nämlich mehr oder weniger häufig Exemplare, welche nach der Teilung zusammenhängen geblieben sind. Handelt es sich um echte Stäbchen, so zeigen sich etwaige Knickungen oder Biegungen ganz unregelmäßig (*Fig. 4, m*); bei den Schraubenbakterien stellen dann die Krümmungen den regelmäßigen Gang der Schraube dar (*Fig. 4, bb*).

Etwas mannigfaltiger entwickelt erscheinen die Schwefelbakterien, die außer den genannten Formen auch spindelförmige, zum Teil unregelmäßige Gestalten aufweisen, wie bei einzelnen Vertretern der Gattungen *Chromatium* und namentlich *Rhabdochromatium*. Auch werden bei letzterer Gattung durch die Teilungsvorgänge Einschnürungen am Körper hervorgerufen, wie sie in ähnlichem Grade bei andern Bakterien nicht vorkommen (*Fig. 4, u—z*).

Schließlich bleiben noch einige Organismen von abweichendem Bau zu erwähnen, deren Zugehörigkeit zu den Bakterien jedoch zweifelhaft ist. Hierher gehören die Gattungen *Spirodiscus* Ehrenberg (1) und *Spiromonas* Warming (1). Ersterer besitzt eine eigentümliche schneckenförmige Gestalt mit breiter Basis und schneckenartig gewundenem sich verjüngendem Körper; er ist aber von Ehrenberg nur einmal in Sibirien beobachtet worden, weitere Beobachtungen fehlen vollständig. *Spiromonas* besitzt einen an beiden Enden zugespitzten bandförmigen Körper und sieht nach der Abbildung bei Warming gar nicht bakterienähnlich aus, sondern erscheint wohl mehr den Flagellaten zugehörig (*Fig. 4, t*).

Ein Gegensatz zwischen **Basis** und **Spitze** läßt sich an der einzelnen Bakterienzelle nicht erkennen; auch wenn die Zellen zu Verbänden vereinigt bleiben, ist er in der Regel nicht erkennbar und wahrscheinlich mit wenigen Ausnahmen nicht vorhanden (*Fig. 4, q, r*). Bei beweglichen Arten geht bald das eine bald das andere Ende (auch **Pol** genannt) voran, beide Enden können — bei den polar begeißelten Arten — Geißeln tragen, so daß Basis und Spitze, Vorn und Hinten bei den Bakterien nicht unterscheidbar sind. Nur bei den hochentwickelten, von Scheiden umgebenen Fadenbakterien ist ein solcher Unterschied zwischen Basis und Spitze vorhanden, insbesondere bei *Crenothrix*, deren an einem Ende festsitzende Fäden sich nach dem freien Ende zu oft merklich verdicken (*Fig. 4, s*). Die einzelnen Zellen lassen indessen einen Unterschied nicht erkennen. Bei anderen festsitzenden Fadenbakterien, so bei *Chlamydothrix*, *Sphaerotilus* und unter den Schwefelbakterien bei *Thiothrix* ist

wenigstens insofern ein Unterschied von Basis und Spitze vorhanden, als das eine Ende des Fadens dem Substrat fest anhaftet und sich nach dieser Richtung hin nicht ausdehnen kann, während das andere Ende frei und entwicklungsfähig bleibt. Dieser Unterschied scheint aber vielfach nur auf die leblosen Scheiden, nicht auf die in ihnen enthaltenen vegetativen Zellen beschränkt zu sein.

Die Gestalt der einzelnen Bakterienzelle kann in verschiedener Weise durch äußere oder innere Verhältnisse beeinflußt werden. Sie verändert sich bei vielen Bakterien sehr merklich während der verschiedenen Entwicklungsstadien, bei der Sporenbildung sowie bei Eintritt ungünstiger Lebensbedingungen, oft auch wohl infolge von Reizeinwirkungen, die wir nur zum Teil kennen und die, ohne der Entwicklung zu schaden, doch äußerlich sichtbare Veränderungen in der Gestalt der Zelle herbeiführen können. Diese Gestaltveränderungen, nur zum kleineren Teile krankhafte oder anormale Erscheinungen, finden in den nächsten Paragraphen ihre Besprechung; hier mag nur darauf hingewiesen werden, daß bei so einförmigen Wesen schon jede geringe Abweichung von den normalen Wuchsverhältnissen notwendigerweise auffallen muß. Aber so einfach auch die Formen sind, so zeigen sich doch deutlich schon innerhalb ein und derselben Kultur einer Art zwischen den einzelnen Individuen Gestaltunterschiede, die sich allerdings meist auf Längen- und Breitendurchmesser, zuweilen auch auf die Beschaffenheit der Enden beschränken. Noch mehr treten diese individuellen Gestaltunterschiede bei manchen Schraubenbakterien, insbesondere bei Spirillen hervor, wobei allerdings der Einfluß der Kultur bereits nicht mehr zu verkennen ist.

§ 9. Größe der Bakterien.

Noch bis vor kurzer Zeit hat man allgemein angenommen, daß man in den Bakterien die kleinsten Organismen zu erblicken habe; in den letzten Jahren hat sich dies jedoch als irrig erwiesen. Zunächst hat LÖFFLER (1) durch seine sinnreichen Untersuchungen nachgewiesen, daß der Infektionsstoff der Maul- und Klauenseuche, der nur als lebendes Wesen gedacht werden kann, durch unsere jetzigen Mikroskope nicht sichtbar zu machen ist, weil er noch durch die feinen Poren der Chamberlandfilter geht. Ebenso gelang es später ROUX (1) den Organismus der in Frankreich epidemisch auftretenden Pleuropneumonie der Rinder auf künstlichen Nährböden zu züchten; man kann die Kolonien auf dem Substrat wachsen sehen, kann sie unbegrenzt übertragen, aber unter dem Mikroskop sind die Organismen nicht mehr erkennbar. Gegenüber diesen kleinsten Wesen sind die Bakterien noch Riesen, obwohl sie freilich weit unter der Grenze der Sichtbarkeit für das bloße Auge stehen.

Die Größenangaben, die sich in der Literatur, namentlich in der medizinischen finden, sind übrigens nicht ohne weiteres miteinander zu vergleichen, da sich ein großer Unterschied zeigt, wenn die Bakterien lebend und wenn sie gefärbt und in Canadabalsam eingeschlossen gemessen sind; in letzterem Falle sind sie oft um mehr als ein Drittel schmäler und entsprechend kürzer.

Der Breitendurchmesser der meisten Bakterien beträgt etwas weniger als 1 μ, bei einigen Arten geht er unter 0,5 μ herab, so beim Influenzabazillus. Andrerseits erreichen die größten Arten einen Querdurchmesser

von 3—4 μ, einzelne der Schwefelbakterien werden noch weit dicker. Solche große Arten trifft man jedoch nicht häufig. Die Länge der einzelnen Stäbchen ist selbst bei ein und derselben Art sehr beträchtlichen Schwankungen unterworfen, was zum Teil mit den Teilungsvorgängen zusammenhängt, zum Teil darauf zurückzuführen ist, daß nur in seltenen Fällen ein Stäbchen einer Zelle entspricht, daß vielmehr in einem Stäbchen meist mehrere, wenn auch noch nicht immer vollständig geteilte Zellen vorhanden sind. Stäbchen von 3—6 μ Länge sind am häufigsten, aber auch solche bis zu 8 und 10 μ Länge findet man nicht selten. Was über 10—12 μ lang ist, wird man zweckmäßig schon als kurze Fäden bezeichnen, da sich diese Formen überhaupt meist nur bei fadenbildenden Bakterien finden. (Vgl. *Fig. 4.*)

Bei den Schraubenbakterien sind die Verhältnisse ähnlich. Die meisten gebogenen Stäbchen stellen etwa ein Drittel Schraubenumgang dar und erreichen eine Länge von 3—6 μ. Hängen mehrere zusammen und stellen eine regelmäßige Schraube von einem oder mehreren Umgängen dar, so wird die eigentliche Länge des schraubig gewundenen Fadens nicht gemessen, sondern nur die Länge der Schraube; solche Schrauben können 20 und mehr μ hoch sein. Zur weiteren Charakterisierung gibt man dann noch die Höhe und Weite der Schraubenumgänge an, die bei manchen Arten sehr gering, wie bei dem Organismus der Cholera, bei anderen sehr beträchtlich sind, z. B. bei *Spirillum undula.*

Ganz besonders große Bakterien sind unter den Schwefelbakterien zu finden; die Fäden der *Beggiatoa mirabilis* Cohn werden bis 16 μ dick, die Zellen von *Chromatium Okenii* 5—6 μ, die von *Rhabdochromatium fusiforme* bis 8,5 μ, von *Thiospirillum jenense* bis 3,5 μ dick. Ein Riese unter den Bakterien, allerdings vielleicht mit Unrecht dazu gerechnet, ist *Achromatium oxaliferum*, dessen Zellen bis 43 μ lang und 22 μ breit werden (*Fig. 4, z*). Ebenso hat Errera (1) ein *Spirillum colossus* von verhältnismäßig großen Dimensionen — über 2,5 μ Dicke — beschrieben. Unter den Stäbchenbakterien ist die dickste mir bis jetzt vorgekommene Art *Bacillus oxalaticus* Zopf, dessen Zellen anfangs bis 4 μ Durchmesser zeigten (*Fig. 4, g*), bei längerer Kultur jedoch merklich schmaler wurden. Unter den Kugelbakterien werden namentlich einzelne Sarcinen sehr groß; bei *Sarcina maxima* beträgt der Durchmesser einer Zelle vor der Teilung bis 4 μ.

Unter den kleinen Bakterien galt lange Zeit der Influenzabazillus mit 1,2 μ Länge und 0,4 μ Dicke als das kleinste; neuerdings ist eine von Esmarch gefundene Schraubenbakterienart, *Spirillum parvum*, mit nur 0,1—0,3 μ Dicke der Zwerg unter den Bakterien geworden. Seine Dimensionen sind so gering, daß sie ihm nach Versuchen von Esmarch's (1) sogar gestatten Berkefeld- und Chamberlandfilter zu passieren. *Micrococcus progrediens* Schroeter soll nur 0,15 μ und *Pseudomonas indigofera* sogar nur 0,06 μ dick und 0,18 μ lang sein.

Die Dimensionen der Bakterien sind übrigens selbst innerhalb einer Art und der gleichen Kultur nicht unbeträchtlichen Schwankungen unterworfen, ganz abgesehen von den Entwicklungs- und Wachstumsverhältnissen, die bereits eingangs erwähnt wurden. Was die Dicke anbetrifft, so fanden sich beispielsweise in einer jungen Kultur des *Bacillus oxalaticus* nebeneinander Stäbchen von 2,5 μ und 4 μ Dicke und dieselben Verhältnisse zeigten sich bei Kulturen, die ihren Ausgang von einer einzelnen Zelle genommen hatten. Aehnliche Schwankungen in der Dicke, bis 25 Proz. und selbst darüber finden sich bei fast allen Stäbchen-

bakterien und es ist deshalb eine nutzlose Arbeit, die Dicke eines Stäbchens bis auf Hundertstel Mikromillimeter feststellen zu wollen. Für solche Genauigkeit in der Messung sind die Schwankungen in den Dickenverhältnissen doch zu groß.

5 Noch mehr zeigen sich Unterschiede in den Längenverhältnissen der Stäbchen einer Kultur; sehr oft bleiben Stäbchen auch nach vollendeter Teilung noch so eng verbunden, daß man kurze Fäden von 10, 15 und mehr μ Länge erhält, während die kürzesten Zellen 2 und 3 μ messen.

Sehr wesentlich beeinflußt werden die Dimensionen der Bakterien 10 durch die Ernährungsverhältnisse, wie dies bereits BUCHNER (1) bei seinen Kulturversuchen mit dem Heubazillus festgestellt hatte. Es hat sich dann ganz allgemein die Tatsache herausgestellt, daß die Dimensionen der Bakterien in oft ziemlich weiten Grenzen durch bessere oder schlechtere Ernährung vergrößert oder verringert werden können. Doch 15 nicht bloß die Größenverhältnisse, sondern die ganze Gestalt kann durch die Lebensbedingungen in nicht unbeträchtlicher Weise beeinflußt werden. So erscheint beispielsweise *Bacillus prodigiosus* auf Agarkulturen, die im Zimmer bei gewöhnlicher Temperatur gehalten werden, in den meisten Fällen als ein sehr kurzes, fast kokkenartiges Stäbchen, weshalb er auch 20 früher stets als Mikrokokkus beschrieben wurde (*Fig. 5, f*). In Bouillon und bei 37° C gezüchtet bildet er dagegen deutliche, wenn auch nicht sehr lange Stäbchen, die aber doch 2—3 mal so lang sind, wie die auf Agarkulturen; unter besonderen Umständen kann es sogar zur Bildung von Fäden kommen (*Fig. 5, g*).

25 Die Frage, ob uns hinsichtlich der Größe der Bakterien bei weiterer Erforschung noch besonders auffallende Erscheinungen begegnen werden, ist wohl zu verneinen. Es müßten denn in bakteriologisch noch nicht



Fig. 5. Zellgestalten einiger Bakterienarten.
a 4 Varietäten von Microspira comma aus der Hamburger Choleraepidemie 1892 ... zweigte Tuberkelbazillen. *c* Verzweigung von Microspira tyrogena. *d* Verzw... des Rotzbakteriums Bact. mallei. *e* Bakterienfäden. *f* Bacillus prodigiosus von ... kultur. *g* Bacillus prodigiosus aus Bouillonkultur. *h* Bacterium aceti. *i* Inv... formen aus einer alten Cholerakultur.

bekannten Ländern in dieser Hinsicht noch besondere Entdeckungen gemacht werden, die bei den kosmopolitischen Eigenschaften der Bakterien im allgemeinen nicht sehr wahrscheinlich sind. In unseren Gegenden dürften sich Arten, die über das bisher beobachtete Maß an Größe hinausgehen, nur als Ausnahmen finden. Noch kleinere Arten aber, wie 5 die bereits an der Grenze der Sichtbarkeit stehenden *Micrococcus progrediens* und *Pseudomonas indigofera* würden wegen der kaum noch wesentlich zu steigernden Leistungsfähigkeit unserer Mikroskope unentdeckt bleiben. Es ist auch kaum wahrscheinlich, daß jene uns unsichtbar bleibenden Organismen zu den Bakterien zu rechnen sind, wahr- 10 scheinlich sind es noch einfacher gebaute Wesen. Uebrigens hat Errera (2) den Nachweis gebracht, daß diese postulierten Organismen der Maul- und Klauenseuche, der Peripneumonie der Rinder und vielleicht auch die der Mosaikfleckenkrankheit des Tabaks wegen der molekularen Zusammensetzung der Eiweißstoffe nicht so sehr viel unter der Grenze der Sicht- 15 barkeit stehen können.

§ 10. Veränderungen der Gestalt bei den Bakterien.

Wir sind gewöhnt, bei den Bakterien wie bei anderen niederen Organismen als die **typische Form** der Art diejenige anzusehen, welche während der lebhaftesten Entwicklung und Vermehrung die vorherrschende 20 ist. Von dieser typischen Form kommen nun, ebenfalls wie bei anderen niederen Organismen, Abweichungen vor und zwar solche, welche in dem natürlichen Entwicklungsgang der Bakterien begründet sind und an anderer Stelle besprochen werden, ferner solche, die als Folge der Variationsfähigkeit der Bakterien aufgefaßt werden müssen und schließ- 25 lich eine Anzahl verschiedenartiger Abweichungen, die weder als Varietäten noch Entwicklungszustände gedeutet werden können. Diese Abweichungen kann man ganz allgemein unter dem Namen Involutionsformen zusammenfassen.

Die **Variabilität** der Bakterien ist zurzeit noch lange nicht in aus- 30 reichender Weise bekannt, doch scheint dieselbe namentlich bei den Schraubenbakterien ausgebildet zu sein. So zeigt besonders der Organismus der asiatischen Cholera eine außerordentlich große Zahl von Varietäten, die von stark gekrümmten bis fast geraden, von sehr kurzen bis sehr lang gestreckten Zellen fast alle Zwischenformen zeigen und sich dabei 35 in Kulturen auffallend konstant gezeigt haben (*Fig. 5, a*). Das Merkwürdige an diesen Varietäten ist, daß sie teilweise einer einzigen Epidemie entstammen, während man doch annehmen müßte, daß die von verschiedenen Erkrankten einer Epidemie gezüchteten Stämme unter sich keine großen Verschiedenheiten aufweisen würden. Diese Varietäten be- 40 halten auch auf verschiedenen Nährböden ihre Formen bei, sind also keine „Ernährungsmodifikationen“, und sie würden, bei unserer gegenwärtigen sehr unsicheren Kenntnis von der Umgrenzung naturhistorischer Arten bei den Bakterien, sicher als verschiedene Arten betrachtet werden, wenn sie nicht eben als Erreger derselben Krankheit gefunden 45 wären. Es ist daher entschieden zu weit gegangen, wenn man den morphologischen Einzelheiten bei den Bakterien wegen ihrer Kleinheit einen nur geringen Wert beilegen will, wie Smith (1) dies tut. Die morphologischen Eigenschaften einer Art zeigen freilich mancherlei Unbeständigkeit; aber weil uns der Umfang dieser Variationsfähigkeit und 50

ihre Ursachen noch nicht hinreichend bekannt sind, kann man doch nicht gleich dieser Gruppe von Merkmalen ganz die Bedeutung absprechen. In dem eben angeführten Beispiel von *Microspira comma* zeigt sich doch, daß auch den Varietäten eine gewisse Konstanz zu-
5 kommt, und diese Tatsache wird sich jedenfalls bei weiteren genaueren Untersuchungen noch bei vielen anderen Arten feststellen lassen.

Die Unterschiede zwischen Arten und mehr oder weniger konstanten Varietäten sind allerdings in morphologischer Hinsicht bei den Bakterien oft ganz unbedeutend. Varietäten sind oft sehr viel deutlicher ihrer
10 Gestalt nach verschieden, als Arten, wie beispielsweise die verschiedenen Varietäten der *Microspira comma* gegenüber den zahlreichen sog. choleraähnlichen Bakterien. Man wird auch zunächst gut tun, nur dann eine Bakterienform als Varietät einer Art zu betrachten, wenn man den Zusammenhang beider mit Bestimmtheit nachweisen kann. Andern-
15 falls ist es besser zwei Formen, die sonst noch so nahe Beziehungen haben, so lange getrennt als Arten zu behandeln, bis irgend ein zwingender Grund zu ihrer Vereinigung geboten ist. Man entgeht dadurch dem nur zu naheliegenden Fehler, durch Zusammenwerfen heterogener Dinge eine oft kaum mehr gut zu machende Verwirrung an-
20 zurichten und mühsam erworbene Daten in Vergessenheit zu bringen.

Wenn wir theoretisch die Art als die systematische Einheit mit gewissen morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Eigenschaften betrachten, so wird sich die Varietät diesem Rahmen im allgemeinen einfügen und nur nach dieser oder jener Seite hin eine Abweichung
25 zeigen. Diese Abweichungen müssen aber einen gewissen Grad von Konstanz zeigen, wenn man den Begriff „Varietät" darauf anwenden will.

Anders ist es mit den Abweichungen, welche als Reaktion auf bestimmte Ernährungsverhältnisse aufzufassen sind und nur so lange bestehen, als eben diese Ernährungsverhältnisse andauern, mit dem Ein-
30 tritt anderer Bedingungen aber sofort schwinden. Derartige Abweichungen sehr leicht veränderlicher Natur werden heut als Formen, fälschlich auch, namentlich in hygienischen Laboratorien, als Rassen bezeichnet; der Ausdruck deckt sich ungefähr mit dem, was Nägeli und später De Bary unter Ernährungsmodifikationen verstanden haben.
35 Aber Umfang und Inhalt dieser Begriffe sind noch flüssig; mit dem Fortschreiten unserer auf diesem Gebiete noch sehr mangelhaften Kenntnisse wird allmählich die Bedeutung solcher Bezeichnungen wenigstens bei den Bakterien verschoben.

So ist auch ebensowenig wie zwischen Art und Varietät immer
40 eine scharfe Grenze zwischen **Varietät und Form** zu ziehen. Da wir über die Konstanz der Varietäten überhaupt noch wenig Erfahrung besitzen, wenigstens was Bakterien anbelangt, so ist auch der Begriff derselben an sich noch ein schwankender. Der asporogene Milzbrandbazillus wird, wenn er eine Reihe Generationen hindurch, auch unter verschiedenen
45 Bedingungen keine Sporenbildung gezeigt hat, als gute Varietät gelten dürfen, obgleich es sehr wahrscheinlich ist, daß er dennoch unter Umständen das Vermögen der Sporenbildung zurückerhält. Ebenso wird ein *Bacillus prodigiosus*, der auf Gelatine oder Agar dauernd farblos wächst gegenüber einem anderen, der auf dem gleichen Substrat regel-
50 mäßig Farbstoff bildet, als Varietät gelten dürfen, trotzdem wir wissen, daß diese farblose Varietät unter ganz bestimmten Verhältnissen mehr oder weniger schnell seine Farbstoffproduktion zurückerhalten kann. Als Form dagegen wird man einen farblosen *Bacillus prodigiosus* bezeichnen,

wenn er beispielsweise nur wegen Mangels an Kohlehydraten auf Agar farblos wächst, aber mit Zufügung solcher sofort wieder Farbstoff bildet. Eine scharfe Grenze ist hier eben vorläufig nicht zu ziehen, weil uns für die verschiedenen möglichen Abstufungen die Bezeichnungen fehlen würden. 5

Solche „Formen“ sind häufig beobachtet worden. Besonders hat MATZUSCHITA (1) den Einfluß des Kochsalzgehaltes der Nährböden von 2,5 Proz. und darüber an mehreren Bakterien festgestellt und dabei gefunden, daß die Form derselben wesentlich verändert werden kann. Kokken können dann stäbchenförmige Zellen bilden, während Stäbchen umgekehrt 10 fast kokkenförmig kurz werden oder schraubige Krümmungen zeigen. HASHIMOTO (1) beschreibt eine Bakterienart, welche auf festem Agar oder zersetzter Milch ein geißeltragendes Stäbchen, in flüssigen Nährböden kugelige streptokokkenartige Zellen bildet, die sich sogar nach drei Richtungen des Raumes teilen sollen, was allerdings wohl auf Ver- 15 schiebungen der Teilungsprodukte beruhen dürfte. Allgemein bekannt ist auch, daß feste und flüssige Nährböden auf Zusammenbleiben oder Trennung der Teilungsprodukte sehr verschiedenen Einfluß haben und insofern für das Zustandekommen von „Formen“ von Bedeutung sind. Denn man spricht auch beispielsweise bei Streptokokken von Formen, wenn 20 kurze oder lange Ketten gebildet werden, Erscheinungen, die bei der Zellteilung noch von einem anderen Gesichtspunkte aus zu besprechen sind.

Alle diese Formabweichungen sind aber in das Gebiet der Variabilität der Bakterien zu ziehen; sie berühren sich bei den „Ernährungsmodifikationen“ jedoch schon mit denjenigen Formveränderungen, die 25 man als Involutionsformen zu bezeichnen pflegt.

Dagegen sind KUTSCHER's (1) *Spirillum undula majus* und *Spirillum undula minus* nur ganz verschiedene Formen, während man nach der Benennung wohl an Varietäten denken könnte.

§ 11. Die Involutionsformen. 30

Bei den meisten Bakterienarten findet man in Kulturen bald nur vereinzelt, bald mehr oder weniger häufig Formen, die in irgend einer Weise von der normalen Gestalt abweichen; man hat sie unter dem gemeinsamen Namen **Involutionsformen** zusammengefaßt, obwohl sie ihrer Entstehung nach ganz sicher sehr heterogene Dinge sind. Der Name 35 mag auch fernerhin beibehalten werden, wenn man sich dabei bewußt bleibt, daß er nicht bloß in Degeneration begriffene, krankhaft veränderte Zellen bezeichnet, wie es seine ursprüngliche Bedeutung war, sondern alle Zellformen, welche von der normalen Gestalt der betreffenden Bakterienart oder Varietät abweichen, ohne Rücksicht auf das Zustande- 40 kommen dieser Abweichung.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß ein Teil dieser Involutionsformen tatsächlich abnorme, krankhaft veränderte Zellen sind, die ihre Gestalt infolge der Einwirkung ungünstiger äußerer Verhältnisse erlangt haben. Als solche Verhältnisse sind besonders Uebersättigung des Nährbodens 45 mit den eigenen Stoffwechselprodukten anzusehen und deshalb findet man derartige krankhafte Zerrformen besonders in alten Kulturen; aber auch das Vorhandensein anderer schädlicher Stoffe oder allzugroße Konzentration gewisser Nährstoffe kann ähnlich wirken.

Neben diesen tatsächlich pathologischen Involutionsformen treten 50

aber auch andere auf, deren Bildung wir zunächst nicht ohne weiteres auf irgend welche schädigende Momente zurückführen können. Sie erscheinen dann entweder als reine Reaktionen auf bestimmte, nicht notwendigerweise schädliche Lebensbedingungen, ähnlich wie dies auch bei 5 manchen wilden, in Kultur genommenen Pflanzen der Fall ist.

Zu den Involutionsformen, die als ausgesprochene Reaktion auf äußere ungünstige Verhältnisse zu deuten sind, gehören unzweifelhaft die Bakteroiden bei den Knöllchenbakterien, die erst nach dem Stillstand der Bakterienvegetation auftreten (*Fig. 5, e*). Sie nehmen außer den 10 nachher noch weiter zu besprechenden verzweigten Formen, sehr verschiedene Gestalten an, bilden kolbige Anschwellungen an einem oder beiden Polen, oder in der Mitte, bieten überhaupt eine Fülle von Unregelmäßigkeiten in jeder Beziehung dar. Dabei verhalten sich die von verschiedenen Leguminosen stammenden Knöllchenbakterien durchaus 15 nicht übereinstimmend und auch die Beschaffenheit der Nährböden ist nach STUTZER (2) von wesentlichem Einfluß. MORCK (1) bildet in seiner Arbeit eine große Anzahl der verschiedensten Formen ab, die allerdings doch eine gewisse Aehnlichkeit nicht verkennen lassen.

Aehnliche Involutionsformen finden sich bei den meisten Bakterien 20 teils nur vereinzelt, teils mehr oder weniger häufig, besonders **in alten Kulturen,** die die Annahme rechtfertigen, daß hier die Anhäufung der eigenen Stoffwechselprodukte zu der Bildung solcher Abnormitäten Veranlassung gegeben hat. Manche Arten, wie *Bacillus subtilis*, *Bacterium anthracis* neigen nur in geringem Maße dazu, andere wieder, wie die 25 meisten Schraubenbakterien, insbesondere *Microspira comma*, in ganz hohem Grade. Es läßt sich auch nicht verkennen, daß eine langdauernde Kultur auf künstlichen Nährböden dazu eine gewisse Disposition hervorruft. Arten, die viele Generationen hindurch, womöglich stets auf den gleichen Nährböden in den Laboratorien gezüchtet wurden, zeigen meist 30 in viel höherem Maße Neigung zur Bildung von Involutionsformen, als frisch aus ihrem natürlichen Nährboden isolierte Kulturen. Denn unsere künstlichen Kulturen bieten den Bakterien ebenso unnatürliche Lebensbedingungen, wie unsere Gewächshäuser den Tropenpflanzen; manche gedeihen kümmerlich, andere sogar sehr üppig, aber sie erhalten dann ein 35 Aussehen, das von dem in ihren natürlichen Verhältnissen völlig verschieden ist.

So ist es auch mit den Bakterien; gleich reichliche Ernährung wie in unseren Kulturen wird ihnen in der Natur wohl nur selten geboten, und hier müssen sie die kärglicheren Nährstoffe noch mit meist zahl- 40 reichen anderen Arten teilen. Der Kampf um das Dasein wird bei den Bakterien nicht anders ausgefochten werden, wie bei höher organisierten Wesen; Zellen, die nicht der Konkurrenz gewachsen sind, gehen zugrunde, vermehren sich nicht und hinterlassen ihre geringer entwickelten Eigenschaften keinen Nachkommen. In den Kulturen fehlt diese Kon- 45 kurrenz vollkommen; Nährstoffe sind meist im Ueberfluß da und können nicht einmal vollständig ausgenützt werden, weil gewöhnlich die Anhäufung der eigenen Stoffwechselprodukte der Entwicklung ein Ziel setzt, noch ehe alle Nährstoffe verbraucht werden. Hier kommen also auch noch kranke oder abnorme Zellen zur Teilung und Vermehrung, 50 sie werden bei der Ueberimpfung immer von neuem mit übertragen und nehmen an Zahl in gleichem Maße in den Kulturen zu, als sich die immer mehr wahrnehmbaren schädlichen Folgen einer gewissermaßen als Mastkur zu bezeichnenden Züchtung geltend machen. Es ist aber

durchaus nicht nötig, das Vorkommen solcher Involutionsformen nur als Produkt künstlicher Züchtung zu betrachten. Auch unter natürlichen Verhältnissen werden sehr oft Bedingungen vorliegen, die für die Entwicklung der Bakterien so ungünstig sind, daß sie sich zwar entwickeln, aber nicht normal. Bei pathogenen Bakterien wird dieser Fall beispielsweise dann gegeben sein, wenn die Zellen des befallenen Organismus beginnen, den Kampf mit den Eindringlingen erfolgreich zu führen. Auch hier sind die Knöllchenbakterien, die offenbar anfangs eine mehr parasitische Lebensweise in den Wurzelknöllchen führen, ein sprechendes Beispiel. Ebenso sind nach meiner Ansicht hierher die Fälle zu rechnen, in denen man abnorme Bakterienformen im menschlichen Körper gefunden hat, so besonders bei Tuberkulose, Diphtheritis, Rotz. Concetti (1) hat erst neuerdings streptothrixartige Formen des Diphtheriebazillus gefunden, die von sehr geringer Pathogenität waren und in Kulturen längere Zeit sowohl diese Eigenschaft als auch die streptothrixartige Form beibehielten. Unter besonderen Kulturmethoden konnten dann die gewöhnlichen Formen des Diphtheriebazillus aus ihnen gezüchtet werden, die dann auch gleichzeitig ihre normale Pathogenität wieder erhielten. In diesem Falle ist neben der ungünstigen Beeinflussung der normalen Wuchsform auch eine solche der Virulenz zu beobachten, ein Fall, der übrigens nach Claudio Fermi und Cano-Brusco (1) sowie Ascoli (1) in weitem Umfange vorzukommen scheint.

Bei anderen Bakterienarten kommen unter fast allen Lebensbedingungen, die wir ihnen bieten können oder unter denen wir sie in der Natur finden, mehr oder weniger unregelmäßige Formen vor, ohne daß man dabei von einer Degeneration oder von den Folgen schädlicher Einflüsse sprechen könnte. Dies tritt in besonders auffallender Weise bei manchen Essigsäurebakterien, besonders bei *Bacterium aceti* und *Bacterium Pasteurianum* hervor (*Fig. 5, h*). Auch bei ihnen werden wir als die typische Form das regelmäßige gerade Stäbchen annehmen dürfen, wie es auch in jungen Kulturen in überwiegender Zahl anzutreffen ist. Daneben treten aber ganz abweichend gebaute Individuen, zuweilen in sehr großer Zahl auf, ganz kurze, fast kokkenartige Zellen, lange schlauchförmige und unregelmäßig aufgetriebene, selbst zu birnförmigen oder fast kugeligen Gebilden angeschwollene, die aber durchaus nicht als Zeichen einer Degeneration aufzufassen sind, sondern sich ebenso lebhaft entwickeln, wie die normalen Stäbchen und bei der Teilung und beim Wachstum, wie man sich durch Kulturen im hängenden Tropfen überzeugen kann, wieder allmählich zu normal gestalteten Zellformen werden können. Freilich treten auch diese Zerrformen nicht so häufig in jungen Kulturen auf, als in älteren, aber sie sind tatsächlich fast in allen Kulturen zu finden und ebenso auch in spontan sauer gewordenen organischen Stoffen, in denen alle möglichen Arten untereinander leben. Entweder muß man annehmen, daß die Gestalt dieser Bakterien normalerweise innerhalb eines weiten Spielraumes wechseln kann, oder daß die Zellen sehr empfindlich sind und schon auf geringe Unterschiede in den Ernährungsverhältnissen, oder auf gegenseitigen Druck usw. mit einer verhältnismäßig bedeutenden Aenderung der Gestalt reagieren.

In **alten Kulturen** der verschiedensten Bakterienarten findet man in der Regel eine große Anzahl abgestorbene Zellen, die sich teilweise schon äußerlich durch ihre abweichende Gestalt, oft auch durch geringeres Lichtbrechungsvermögen von den lebenden Zellen unterscheiden (*Fig. 5, i*). Solche tote Zerrformen, deren Entwicklungsunfähigkeit wiederholt durch

Kulturen im hängenden Tropfen nachgewiesen wurde, haben zu der in früherer Zeit geltenden Anschauung geführt, daß alle vom normalen Zellentypus abweichenden Formen, die „Involutionsformen" als Ausdruck der **Degeneration,** des Absterbens aufzufassen seien. Man verband also 5 mit dem Wort Involutionsform den Begriff des individuellen Niederganges und dehnte die Bezeichnung auch auf solche Abweichungen von der normalen Gestalt der Bakterienzelle aus, die nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen durchaus keine Degeneration bedeuten, wie bei den Essigbakterien. Wenn wir den Begriff Involutionsform heut in 10 der eingangs bezeichneten weiteren Fassung anwenden, so bleiben davon doch alle jene Formveränderungen ausgeschlossen, die einmal als reine Ernährungsmodifikationen oder als mehr oder minder konstante morphologisch ausgezeichnete Varietäten anzusehen sind, dann aber auch alle Formen, die im Verlauf der natürlichen Entwicklung einer Spezies 15 normalerweise aufeinander folgen. Trotz dieser verhältnismäßig scharf umschriebenen Fassung ist aber eine Abgrenzung der Involutionsformen nach beiden Richtungen hin mit Schwierigkeiten verbunden. Einerseits läßt sich nämlich sehr schwer beurteilen, wo die Grenze zwischen Involutionsformen und Ernährungsmodifikationen zu ziehen ist, zumal die 20 Kenntnisse hinsichtlich der Variationsfähigkeit einer Art noch sehr lückenhaft sind, andrerseits ist aber auch der Entwicklungsgang der Bakterien im allgemeinen noch nicht so weit erforscht, um einzelne Erscheinungen mit Sicherheit als in diesen Kreis gehörig oder als Involutionsformen zu deuten. Eine Erscheinung, die zur Zeit noch sehr ver-25 schiedene Deutung erfährt, ist die **Verzweigung der Bakterien.** Sie wurde zuerst eingehender beim Organismus der Tuberkulose beobachtet und beschrieben [FISCHEL (1)]. In manchen Fällen, wie bei den Bakteroiden, ist die Verzweigung zweifellos als eine Degenerationserscheinung anzusehen, was in anderen Fällen nicht ohne weiteres behauptet werden 30 kann. Im Laufe der Zeit sind nämlich bei sehr vielen Bakterienarten echte Verzweigungen entdeckt worden, so von KLEIN (1), HILL (1), STEFANSKY (1), VINCENT (1), MEYER (1). Von manchen Autoren wird das Vorkommen von Verzweigungen bei Bakterien als ausreichend angesehen, sie von den eigentlichen Bakterien zu trennen und sie entweder 35 direkt den Fadenpilzen anzureihen, oder ihnen doch eine Zwischenstellung zwischen Bakterien und Fadenpilzen anzuweisen. So bilden LEHMANN und NEUMANN (1) für diese Organismen besondere Gattungen (*Corynebacterium*, s. 6. Kap.) und trennen sie von den eigentlichen Bakterien. (Vgl. *Fig. 5, b–e.*)

40 MEYER (1) kommt bei der Untersuchung einer sporenbildenden Art, des *Bacillus cohaerens*, zu dem Schluß, daß die Arten von *Bacillus*, *Bacterium* und wahrscheinlich auch *Spirillum* von ihren Vorfahren, als welche er die Ascomyceten ansieht, die Fähigkeit der Verzweigung ererbt haben. „Die Bildung von Zweigen tritt jedoch nur noch selten 45 und in rudimentärer Weise ein. Sie findet am normalsten im Jugendzustande der Spezies statt, in einem Stadium des Entwicklungsganges, in welchem wahrscheinlich die Bildung des verzweigten Mycels bei den Vorfahren der Bakterien lag." Auch HILL (1) kommt bei seinen Untersuchungen zu der Anschauung, daß besonders in jungen 5—10 Stunden 50 alten Agarkulturen Zweigbildung durch „Knospung" eintrete.

Ich kann dieser Auffassung der Verzweigungen nicht ganz beitreten, sondern halte dieselben ausnahmslos für Mißbildungen. Zu dieser Ansicht haben mich folgende Beobachtungen bestimmt: Die Bakterien der

Leguminosenknöllchen zeigen in normal wachsenden Kulturen keine Verzweigungen, ebensowenig wie sie zur Zeit ihrer üppigsten Entwicklung in den Zellen der Knöllchen Spuren der Verzweigung erkennen lassen. Verändert man dagegen die Nährböden und wählt statt der Auszüge der krautartigen Teile z. B. die Auszüge von 6 Wochen alten Keim- 5 lingen, wie dies HILTNER getan hat, so stellen sich neben normalen Formen bereits Bakteroiden ein. STUTZER (2) gelang es durch sehr verschiedene Variation in der Zusammensetzung der Nährböden ausgesprochene Bakteroidenformen mit oft sehr deutlicher Verzweigung zu erhalten, so durch Zusatz von Inulin, Glukose, Saccharose. Die Bakte- 10 roiden treten in diesem Falle entschieden infolge gewisser Ernährungsverhältnisse auf und sind keine Erscheinung, die mit der Entwicklung der Bakterien notwendig verbunden sein müssen. Da sie aber in den Zellen der Knöllchen entschieden erst mit Eintritt ungünstiger Verhältnisse entstehen, so muß man sie als Mißbildungen bezeichnen. 15

Die Annahme A. MEYER's, daß die Zweigbildungen im Jugendzustand einer Spezies auftreten, ist für die Knöllchenbakterien in ihrer Entwicklung in den Knöllchen nicht gültig; auch bei einer anderen Bakterienart, dem *Bacterium tuberculosis*, konnte ich dies nicht bestätigt finden. Ich habe vor mehreren Jahren mit diesem Organismus eben 20 wegen der Verzweigungen eine größere Reihe von Versuchen angestellt, die alle zeigten, daß in jungen Kulturen Verzweigungen nicht nachweisbar waren; erst wenn die lebhafteste Entwicklung vorüber war, zeigte sich Neigung zu Zweigbildungen. Impft man aber die Kolonien frühzeitig, nach 5—8 Tagen regelmäßig ab, so treten keine Verzweigungen 25 auf. Ferner zeigte sich, daß ein zu großer oder zu geringer Gehalt des Nähragars an Glycerin die Neigung zur Zweigbildung begünstigte, ein mittlerer von 4—6 Proz. dagegen ungünstig war; bei einem Gehalt von 12 Proz. Glycerin war das Wachstum ausgesprochen behindert, aber die Zweigbildung trat frühzeitig und in umfangreicher Weise ein. 30

Schließlich möchte ich auch noch auf die Möglichkeit hinweisen, daß die Zweigbildungen bei Bakterien vielleicht nicht selten durch andere äußere Reize hervorgerufen werden, wie dies für andere nicht zweigbildende Organismen festgestellt ist. So repräsentiert die Gattung *Spirogyra* entschieden ganz typisch unverzweigte Zellfäden; in Kulturen 35 habe ich (1) wiederholt ganz eigentümliche Verzweigungen beobachtet und auch abgebildet. Diese Verzweigungen sind später in umfangreicherer Weise von BORGE (1) beobachtet und zum Gegenstand einer Untersuchung gemacht worden; er kommt dabei zu dem Schlusse, daß es sich um Bildungen handle, die infolge von längere Zeit wirkenden 40 Kontaktreizen entstanden seien. Aehnliche Ursachen mögen bei den so dicht gedrängt in den Kulturen zusammenwachsenden Bakterien wohl sehr häufig zu Verzweigungen führen. Wenigstens neigen die in Flüssigkeiten wachsenden, suspendierten Bakterien im allgemeinen nicht zur Zweigbildung. Uebrigens sind derartige Verzweigungen oder „Rhizoiden- 45 bildungen" bei sonst unverzweigten Algen und Pilzen wiederholt beobachtet worden; die Literatur ist bei BORGE (l. c.) ausführlich zusammengestellt.

Jedenfalls ist es aber in sehr vielen Fällen leicht zu erkennen, daß die Verzweigungen mit Involutionsformen in nahem Zusammenhang 50 stehen; so bei den Knöllchenbakterien. Bei *Microspira tyrogena* fand ich (2) einmal prachtvoll ausgebildete Verzweigungen, während gleichzeitig fast alle Zellen mehr oder weniger als Zerrformen entwickelt waren.

§ 12. Die Lehre vom Pleomorphismus der Bakterien.

Daß bei den Bakterien unter Umständen gewisse Formveränderungen vorkommen, ist bereits in den vorigen Paragraphen erwähnt worden. Der Umfang dieser Veränderungen und die Ursachen derselben sind uns freilich nicht immer genügend bekannt, doch sind unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete wenigstens so weit vorgeschritten, daß man einerseits die Lehre von einem weitgehenden Pleomorphismus der Bakterien als irrig bezeichnen kann, andrerseits aber auch das starre Festhalten an der völligen Unveränderlichkeit der Bakterienformen aufzugeben gezwungen ist.

Die Lehre von dem Pleomorphismus der Bakterien ist zunächst durch Nägeli in umfangreichster Weise vertreten worden. Er war überzeugter Anhänger der Urzeugung und nimmt von den Bakterien an, daß sie nicht bloß aus Samen, sondern auch aus gärenden, faulenden und sich zersetzenden organischen Substanzen durch Urzeugung entstehen könnten (1) oder in einer späteren Arbeit (2), daß die anatomische Struktur keinen Aufschluß darüber gebe, ob es Pflanzen, Tiere oder krankhafte tierische oder vegetabilische Elementarteile seien. Und wenn Nägeli später auch wohl seine Ansicht bezüglich der Entstehung von Bakterien durch Urzeugung geändert haben mag, so ist er doch seiner Anschauung bezüglich der Vielgestaltigkeit der Bakterien treu geblieben, einer Anschauung, die er (3) am treffendsten selbst durch den Satz charakterisiert: „Ich habe seit 10 Jahren wohl Tausende von verschiedenen Spalthefeformen untersucht, und ich könnte (wenn ich Sarcine ausschließe) nicht behaupten, daß auch nur zur Trennung in zwei spezifisch verschiedene Formen Nötigung vorhanden sei.“ Seiner Anschauung nach gibt es allerdings „einige wenige Arten, die aber mit den jetzigen Gattungen und Arten wenig gemein haben und von denen jede einen bestimmten aber ziemlich weiten Formenkreis durchläuft, wobei verschiedene Arten in analogen Formen und mit gleicher Wirkungsweise auftreten können.“

Zu dieser Auffassung wurde Nägeli teils durch irrige Deutung der Bakterienzelle, teils durch Erwägungen physiologischer Art gebracht. Er bestreitet Cohn's heute allgemein als richtig anerkannte Beschreibung des Baues der Bakterienzelle, nimmt vielmehr an, daß die Spaltpilze ohne Ausnahme kurze rundliche Zellen von kaum $^1/_{500}$ mm Durchmesser seien und daß nur die innige Vereinigung dieser Elemente Stäbchen, Schrauben usw. vortäusche. Bei Behandlung mit Jod trete die torulöse Form hervor, oft erschienen sogar die Stäbchen deutlich aus kurzen Gliedern bestehend. Nägeli hat sich hier durch die Wirkung von Reagentien über den wahren Bau der Bakterien täuschen lassen; der zarte Bakterienleib ist so energisch wirkenden Reagentien, wie Jodlösung, gegenüber nicht widerstandsfähig genug, seine Form zu behalten. Eine ähnliche Erscheinung findet man schon, wenn man sehr dünnwandige Bakterienzellen, z. B. Choleravibrionen, mit Karbolfuchsin behandelt; die Zellen sehen dann wie aus einer Reihe Kokken bestehend aus.

Die physiologischen Gründe, die Nägeli für die Vielgestaltigkeit der Bakterien beibringt sind eigentlich von vornherein ausgeschlossen, wenn sie als Stütze für morphologische, entwicklungsgeschichtliche oder systematische Thesen dienen sollen; sie sind es aber vorzugsweise, die

zur Verbreitung und zur Annahme eines nahezu schrankenlosen Pleomorphismus der Bakterien beigetragen haben und müssen deshalb hier Erwähnung finden.

Er geht zunächst von der Tatsache aus, daß bei der gleichen Zersetzung oft ein Gemenge von mehreren Formen, die gewöhnlich generisch und spezifisch getrennt werden, gefunden werde und daß andrerseits bei ganz verschiedenen Zersetzungen anscheinend durchaus gleiche Formen vorkämen. Er fährt dann fort: „Diese Tatsache ist der Behauptung, daß jeder Zersetzung eine spezifische Pilzform zukomme, durchaus ungünstig.“ Eine derartige Behauptung ist aber, wenigstens in dieser Form nicht aufgestellt worden; die Erfahrung hat aber gelehrt, daß sie dennoch vollkommen richtig ist, nur daß für bestimmte Zersetzungen nicht eine sondern oft mehrere Bakterienformen in Frage kommen. Außerdem hat sich aber auch in dieser Hinsicht unsere Kenntnis sehr wesentlich erweitert; für Nägeli war beispielsweise die Milchsäuregärung noch ein einheitlicher Prozeß, im wesentlichen eine Zerlegung des Milchzuckers in Milchsäure und Kohlensäure. Er hat diesen Vorgang vielleicht oft beobachtet und oft ganz verschiedene Bakterienformen an der Zersetzung gleichzeitig beteiligt gefunden. Heute wissen wir, daß allerdings eine große Anzahl der verschiedensten Bakterienarten Milchzucker zerlegen können, Coccaceen, Stäbchenbakterien, Schraubenbakterien, aber dennoch sind die Prozesse, die sich bei der Zersetzung des Milchzuckers durch diese verschiedenen Arten abspielen, meist ganz wesentlich voneinander verschieden, nicht nur hinsichtlich der Quantitäten der Endprodukte, sondern auch hinsichtlich der Qualität. Der eine bildet ganz andere Mengen Milchsäure resp. Kohlensäure, als ein zweiter aus der gleichen Menge Milchzucker, und während diese beiden den Milchzucker nahezu glatt in Milchsäure und Kohlensäure spalten, bringt ein dritter noch Alkohol, ein vierter Buttersäure usw. als Nebenprodukt. Aber als sicher hat sich herausgestellt, daß der gleiche Organismus unter den gleichen Verhältnissen stets den gleichen Zersetzungsprozeß auslöst und beispielsweise nicht das eine Mal Links-, das andere Mal Rechts-Milchsäure produziert.

Daß Nägeli ferner bei ganz verschiedenen Zersetzungen anscheinend „durchaus die gleichen Spaltpilze“ gefunden hat, ist einmal dadurch begründet, daß es tatsächlich den meisten Bakterien möglich ist, unter verschiedenen Ernährungsbedingungen verschiedene Zersetzungen auszulösen, dann aber auch dadurch, daß wir kein Mittel haben, aus den sehr einförmigen morphologischen Verhältnissen die außerordentlich zahlreichen Bakterienarten zu erkennen. Ein Milchsäurebakterium kann einem Buttersäurebildner in allen Eigenschaften morphologisch vollkommen gleich sein, so daß wir gänzlich außerstande sind, sie in gärenden Substraten voneinander zu unterscheiden, und dennoch wird das eine unter denselben Verhältnissen nur Milchsäure, der andere nur Buttersäure produzieren.

Nägeli faßte die damals auftauchende Ansicht, daß für gewisse Zersetzungserscheinungen auch bestimmte Bakterien charakteristisch seien, auch insofern falsch auf, als er glaubte, es solle jeder Art nur eine bestimmte spezifische Zersetzung zukommen. Hiernach müßten, argumentiert er, neu entdeckte chemische Verbindungen, die in der Natur nicht vorkommen, ohne Zersetzung bleiben, weil die spezifischen Zersetzungserreger fehlten. Er weist dabei, um die Haltlosigkeit dieser Ansicht darzutun, auf das Glycerin und das Glycerinäthylbakterium

hin. Aber das Glycerinäthylbakterium ist eine wohl umschriebene Art, welche je nach den Ernährungsbedingungen ganz verschiedene Zersetzungen auslösen kann. Es würde ja auch eine ganz merkwürdige Erscheinung sein, wenn jede Bakterienart nur auf die Zersetzung einer bestimmten organischen Verbindung eingerichtet wäre, und man käme zu absurden Konsequenzen, wenn man dies weiter ausführen wollte. Indessen ist diese Anschauung auch nur von Nägeli aus den Arbeiten anderer herausgelesen worden, sie hat in Wirklichkeit niemals in diesem Extrem bestanden.

Schließlich führt Nägeli an, daß durch Kochen der Milch die in ihr enthaltenen Milchsäurebakterien andere Eigenschaften annehmen, keine Milchsäuregärung mehr hervorrufen, sondern der Milch einen bitteren Geschmack verleihen. Die Irrigkeit dieses Beweises für den Pleomorphismus der Bakterien wurde durch Hueppe (1) erbracht, der nachwies, daß nicht die Milchsäurebakterien durch das Kochen ihren Charakter ändern, sondern daß sie vielmehr, da sie keine Sporen bilden, absterben. An ihre Stelle treten dann die durch das Kochen nicht vernichteten sporenbildenden Buttersäurebakterien, die, nicht anaerob, erst durch Austreibung des Sauerstoffs durch Kochen in der Milch geeignete Lebensbedingungen finden und nun freilich eine ganz andere Zersetzung bewirken.

Inzwischen hatten Nägeli's Anschauungen über den Pleomorphismus der Bakterien eine Stütze durch Buchner's Arbeit (1) über die Umwandlung des Milzbrandbazillus in den Heubazillus und umgekehrt erfahren. Die Arbeit ist dadurch ausgezeichnet, daß sie zeigt, auf welche Irrwege selbst so hervorragende Gelehrte wie Buchner und Nägeli, unter dessen zweifellosem Einfluß die Arbeit entstanden war, geraten können. Die glänzenden Arbeiten Koch's und Cohn's über die Entwicklungsgeschichte beider Bakterienarten, wodurch eine Verwechslung derselben gänzlich unmöglich gemacht war, wurden von Buchner überhaupt nicht berücksichtigt; freilich war eine Widerlegung der Ergebnisse kaum nötig.

Die Lehre vom Pleomorphismus der Bakterien war zwar durch Nägeli's Arbeiten auf eine breite, keineswegs aber durch exakte Forschungen gestützte Grundlage gestellt worden, und inzwischen hatten sich andere Forscher damit beschäftigt, dieselbe in verschiedener Weise auszubauen.

Am weitesten in bezug auf Pleomorphismus ging Hallier (1—3), der nicht nur in den Bakterienformen verschiedene Entwicklungszustände erblickte, sondern diese überhaupt nur als Formen gewisser höherer Pilze ansah. Die Schimmelpilze, insbesondere die Gattung *Penicillium* sind nach seiner, durch die Entdeckung eines weitgehenden Pleomorphismus bei den Uredineen beeinflußten Anschauung sehr pleormorphe Organismen, deren Formen wesentlich durch die Lebensbedingungen beeinflußt werden. Infolge dieser Anpassung an verschiedene Lebensbedingungen kann z. B. *Penicillium glaucum* bald als *Penicillium* bald als *Achorion* oder Gliederhefe oder *Leptothrix* oder *Leptothrix*-Hefe oder *Torula* oder *Acrosporon* auftreten. Er hält an dem Vorhandensein verschiedener Arten fest, meint aber, daß diese Arten in ganz verschiedenen bisher in verschiedenen Gattungen, Familien und selbst Ordnungen untergebrachten Entwicklungsstadien vorkämen. Was er zu behandeln meint, sind ihm nur Pilzformen und er warnt ausdrücklich vor ihrer Verwechselung mit „Bakterien und Vibrionen“, obwohl er tatsächlich fort-

während echte Bakterien in den Kreis seiner Pilzformen hineinzieht. Uebrigens war HALLIER der erste, welcher die Zusammengehörigkeit der Formen auf experimentellem Wege darzutun suchte; er war dabei freilich infolge von Fehlern in der Versuchsanordnung und in der wissenschaftlichen Fragestellung unglücklich. Aber er gab doch den Anstoß dazu, auch auf diesem Gebiete der experimentellen Methode einen größeren Wert beizulegen.

Aehnlich wie bei HALLIER hat auch JOHANNA LÜDERS (1) einen Zusammenhang zwischen Bakterien und Pilzen, besonders *Mucor-* oder *Botrytis*-Arten zu beobachten geglaubt. Alle diese Versuche scheiterten an der Unmöglichkeit, die Beobachtungen an Reinkulturen auszuführen und man war natürlich nicht imstande, die Individuen eines Bakteriengemenges oder eines Gemenges niederer Organismen auseinanderzuhalten, so daß ohne scharfe Kritik Beobachtungsfehler sehr begreiflich waren.

Anders als HALLIER und LÜDERS, mehr im Sinne NÄGELI'scher Anschauungen, faßt BILLROTH (1) in seiner *Coccobacteria septica* alle Bakterienformen als Entwicklungsstadien einer einzigen sehr pleomorphen, zu den Oscillarien gehörigen Art auf, die jedoch mit Pilzen und Hefen keinerlei Verwandtschaft habe. Seine Arbeit behandelt die Wuchsformen dieser Art, der *Coccobacteria septica*, die er zwar ziemlich regellos auseinander entstehen läßt, die aber insofern noch heute Interesse beanspruchen, als sie für die Nomenklatur von Bedeutung geworden sind. Zunächst gliedert er die *Coccobacteria* in runde Wuchsformen „*Coccos*“ und gestreckte „*Bacteria*“. Erstere sind nach der Größe *Micro-*, *Meso-* und *Megacoccos;* mit einer Schleimhülle umgeben, werden sie zu *Gliacoccos*, bilden sie schleimige Platten, *Petalococcos*, schleimige Klümpchen *Ascococcos*, perlschnurartige Fäden *Streptococcos*; analoge Namen gibt er den „*Bacteria*“.

Auch KLEBS (1) huldigt noch einem ziemlich weitgehenden Pleomorphismus, wenn er auch getrennte Arten unter den Bakterien annimmt. Seine Organismen der Wundinfektion und Diphtherie (*Microsporon septicum* und *M. diphtheriticum*) umfassen noch eine große Anzahl völlig heterogener Dinge. Auch die Beobachtung unter dem Mikroskop in der feuchten Kammer bewahrte ihn nicht vor Täuschungen, da er eben von vornherein mit unreinem Material arbeitete und keine kontinuierliche Beobachtung ein und desselben Individuums anwandte.

In wesentlich anderer Form tritt die Fassung des Pleomorphismus bei CIENKOWSKI (1) auf. Er ist von dem Vorhandensein verschiedener distinkter Bakterienarten vollkommen durchdrungen, nur glaubt er, daß die Umgrenzung von Arten und Gattungen in einer anderen Weise erfolgen müsse. Er hält ungegliederte Fäden, gegliederte Fäden, Stäbchen und Kokken nur für aufeinanderfolgende Entwicklungszustände innerhalb des Lebens e i n e r Art, ein Gedanke, der wenigstens bezüglich der Fäden und Stäbchen in gewissem Sinne vollkommen berechtigt ist. Die Gründe aber, wodurch er seine Ansicht stützt, sind freilich nicht einwandsfrei; er meint, weil die verschiedenen Formen in demselben Zoogloeaexemplare vorkämen, müssten sie auch zusammengehören, ein Irrtum, vor welchem COHN bereits eindringlich gewarnt hatte.

Dieser Anschauung CIENKOWSKI's schließt sich ZOPF (1) fast vollständig an; auch ihm sind die COHN'schen Gattungen nur Entwicklungsstadien. Bei ZOPF findet sich überhaupt zum erstenmal die Vorstellung von einem ähnlichen Pleomorphismus, wie er bei den Uredineen vorkommt, nämlich daß von einem Punkte ausgehend die Entwicklung in

verschiedener Weise erfolgen kann, daß mit anderen Worten mehrere Entwicklungskreise bei ein und derselben Art vorhanden sein können. Er kommt aber bereits zu der Ueberzeugung, daß neben sehr formenreichen Arten, wie *Cladothrix dichotoma*, auch relativ einförmige, wie viele 5 pathogene Bakterien vorhanden seien. Allerdings sind auch ihm die COHN'schen Gattungen nur Formbezeichnungen und keine Arten, sie haben „nur noch historischen Wert".

Gegenüber dieser pleomorphistischen Richtung in der Bakteriologie, die zeitweise vollständig dominierend wurde, hatten die Vertreter der 10 entgegengesetzten Anschauung einen schweren Stand, bis durch KOCH's Entdeckung des Plattenkulturverfahrens die Möglichkeit gegeben war, die einzelnen Arten rein zu züchten. Hierdurch war man plötzlich in den Stand gesetzt, wenigstens für einen großen Teil der Bakterien den Nachweis ihrer relativen Einförmigkeit zu erbringen.

15 Die ältesten Bakteriologen, MÜLLER, EHRENBERG, DUJARDIN und auch COHN in seiner ersten Arbeit (1) haben den Gedanken an einen Pleomorphismus der Bakterien überhaupt nicht gehegt. Später bekämpfte COHN (2, 3) diese Anschauung, insbesondere BILLROTH's an *Coccobacteria septica* vorgetragene Lehre; er ist der Ansicht, daß sich die 20 Bakterien ebenso wie andere Organismen in distinkte Arten gliedern lassen und „daß nur ihre Kleinheit, das meist gesellige Zusammenwohnen verschiedener Spezies, sowie die Variabilität der Arten die Unterscheidung in vielen Fällen für unsere heutigen Mittel unmöglich macht". In einer späteren Arbeit (3) bezeichnet er es als im Interesse des 25 Fortschrittes in der Bakteriologie für geboten, alles Unterscheidbare so lange auseinanderzuhalten, als nicht zwingende Gründe für eine Zusammenziehung vorhanden seien. Solche zwingende Gründe zur Zusammenziehung aller mikroskopisch unterscheidbaren Bakterienformen lagen aber damals durchaus nicht vor.

30 COHN vermochte sich dabei auf eine inzwischen erschienene Arbeit SCHROETER's (1) zu stützen, welcher auf ausgelegten Kartoffelscheiben farbstoffbildende Bakterien in kleinen getrennt wachsenden Kolonien erhalten und diese in Reinkulturen weiter gezüchtet hatte. Die außerordentliche Konstanz dieser Bakterien in ihren morphologischen und 35 biologischen Eigenschaften unter verschiedenen Lebensbedingungen war ein sicherer erster Beweis dafür, daß wenigstens ein Teil der Bakterienarten, und zwar gerade alle, die bis dahin einer eingehenden Untersuchung zugänglich waren, keinerlei Neigung zu Pleomorphismus zeigten.

Mit der allgemeineren Verwendung der Plattenkulturen wurde dann 40 in kurzer Zeit für die meisten Arten eine sehr bedeutende Formkonstanz nachgewiesen. Nur einige Arten, deren Kultur und Isolierung durchaus nicht gelingen wollte, insbesondere *Cladothrix* und die Schwefelbakterien galten noch immer als pleomorph.

Die Entscheidung über diese schwierige Bakteriengruppe brachte 45 eine hervorragende Untersuchung WINOGRADSKY's (1), der durch kontinuierliche Beobachtung der Organismen im hängenden Tropfen unter Anwendung sehr sinnreicher aber umständlicher Methoden den zweifellosen Nachweis erbringen konnte, daß die Schwefelbakterien sogar sehr einförmige Organismen seien und auch bei ihnen ein Pleomorphismus in 50 dem von ZOPF, RAY LANKESTER und WARMING angenommenen Maße nicht vorkomme. Vielmehr lassen sich die verschiedenen, von den genannten Forschern in den Entwicklungskreis einer Art gezogenen Formen bei Anwendung der von ihm geübten Methode mit Sicherheit

als völlig verschiedene Organismen erkennen. BÜSGEN (1) gelang es einige Zeit nachher auch *Cladothrix dichotoma* in Reinkultur zu züchten und ebenfalls deren relative Einförmigkeit gegenüber den Angaben ZOPF's festzustellen.

Diese Ergebnisse haben sich bisher stets als richtig erwiesen und 5 die Lehre vom Pleomorphismus der Bakterien ist zurzeit so gut wie völlig aufgegeben, wenn auch von Zeit zu Zeit immer wieder Arbeiten erscheinen, die längst als unrichtig Erkanntes plötzlich wieder hervorsuchen, wie dies beispielsweise von STUTZER (1) geschehen ist. Die Arbeit ist von FRAENKEL (1), GAERTNER (1) und WINOGRADSKY (2) einer 10 so eingehenden Widerlegung unterzogen worden, daß sie an dieser Stelle übergangen werden kann.

Auch OLAV JOHAN-OLSEN (1) kehrt zu der Anschauung zurück, daß wenigstens ein Teil der Bakterien nur als Entwicklungszustände höherer Pilze zu deuten sind und beruft sich dabei auf Verzweigungen mancher 15 Bakterienarten, die im nächsten Paragraphen ihre Besprechung finden, und ferner auf die Tatsache, daß ein von ihm bei Klippfischen gefundener Pilz als Sarcine aufzutreten vermag. Daß gelegentlich bei Pilzen äußerlich ähnliche Bildungen entstehen können, wie sie die Gattung Sarcina in ihren Vertretern zeigt, ist natürlich noch lange kein 20 Grund, diese Bildungen als Sarcinen anzusprechen.

Eine sehr große Verwirrung ist in der Literatur dadurch entstanden, daß fast jeder auf diesem Gebiete arbeitende Forscher den Begriff „Pleomorphismus" etwas anders faßt. Dem einen gilt schon der *Bacillus subtilis* als pleomorph, weil er im Laufe seiner Entwicklung Sporen, 25 Keimstäbchen, Schwärmer und Fäden bildet. Damit ist natürlich eine Bedeutung in den Begriff Pleomorphismus hineingetragen, die demselben ursprünglich gar nicht zukam. Wir sollten uns darauf beschränken, einen Organismus als pleomorph zu bezeichnen, bei welchem verschiedene, in sich abgeschlossene Entwicklungskreise vorkommen oder doch vor- 30 kommen können, wie die Uredineen oder unter den Algen etwa *Botrydium granulatum*. Wenn man aber die verschiedenen Stadien einer einzigen Entwicklungsform, wie sie bei *Bacillus subtilis* vorkommen, schon als Pleomorphismus bezeichnen will, so dürfte es überhaupt nur sehr wenig nicht pleomorphe Organismen geben. Auch SCHWALBE (1) gibt noch 35 neuerdings dem Pleomorphismus diese Bedeutung.

Ebenso oft ist die Variabilität der Bakterien Veranlassung zur Annahme eines weitgehenden Pleomorphismus geworden, obwohl weder die Zahl der Varietäten oder besser Variationen noch deren Umfang in irgend welchen Beziehungen zum Pleomorphismus stehen. Viele Algen 40 sind sehr reich an Varietäten, wie *Hydrurus foetidus*, aber es wird keinem Botaniker einfallen, sie als pleomorph zu bezeichnen. Ebensowenig dürfen die vielen Involutionsformen, die jedenfalls zumeist auf äußere Reize hin entstehen, in das Gebiet des Pleomorphismus gezogen werden. 45

Literatur

zum Kapitel Allgemeine Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien.

*ASCOLI, G., (1) Dtsch. med. Wochenschrift, **1901**, Nr. 20. — *BILLROTH, (1) Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica. Berlin **1874**. — *BORGE, O., (1) Ueber die Rhizoidenbildung bei einigen fadenförmigen Chlorophyceen. Upsala **1894**. — *BUCHNER, H., (1) NÄGELI's Untersuch. über niedere Pilze, **1882**. —

*Büsgen, M., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1894, Bd. XII, S. 147. — *Cienkowski, L., (1) Mém. de l'acad. imp. des sc. de St. Pétersbourg, VII. Sér., XXV, Nr. 2. — *Claudio Fermi und Cano, N., (1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 29, S. 473 und Bd. 31, Ref. S. 649. – *Cohn, F. (1) Nova Acta Acad. Caes. Leop. Carol. Nat. Cur., Vol. XXIV, P. I. (2) II. Beitr. z. Biol. d. Pflanz, 1872, Bd. I, H. 2. (3) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1875, Bd. I, H. 3. — *Concetti, (1) Arch. f. Kinderhlk., 1901, Bd. XXXI, H. 3 u. 4. — *Ehrenberg, (1) Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Leipzig 1838. — *Errera, L., (1) Recueil de l'Institut Botanique, université de Bruxelles, T. V, Brüssel 1902. (2) Recueil de l'Institut Botanique, université de Bruxelles. Brüssel 1903. — *Esmarch, E. v., (1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig. Bd. 32, S. 561. — *Fischel, F., Untersuchungen über die Morphologie und Biologie des Tuberkuloseerregers. 1893. — *Fraenkel, C., (1) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. IV, S. 8. – *Gaertner, A., (1) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. IV, S. 1. — *Hallier, E., (1) Parasitologische Untersuchungen bezüglich auf die pflanzlichen Organismen bei Masern, Hungertyphus, Darmtyphus, Blattern, Kuhpocken, Schafpocken, Cholera nostras etc. 1868. (2) Gärungserscheinungen. Untersuchungen über Gärung, Fäulnis und Verwesung mit Berücksichtigung der Miasmen und Kontagien, sowie der Desinfektion. Leipzig 1867. (3) Phytopathologie. Leipzig 1868. — *Weitere weniger allgemeine Literatur bei Migula, System d. Bakt., Bd. I, S. 48. — *Hashimoto, (1) Z. f. Hyg., Bd. XXXI, H. 1. — *Hill, H. W., (1) Amerik. Bakt.-Ges. Ref. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. XXXI, Ref. S. 303. — *Hueppe, F., (1) Mitt. Kais. Ges-Amt, 1884, Bd. II. — *Johan-Olsen, (1) Centralbl. f. Bak., II. Abt., Bd. III, S. 273. — *Klebs, (1) Arch. f. exper. Path. u. Pharm., 1875, Bd. IV. — *Klein, E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. VII, Nr. 25. — *Kutscher, (1) Centralbl. f. Bakt., 1895, Bd. XVIII, S. 614. — *Lehmann und Neumann, (1) Atlas und Grundriß der Bakteriologie, II. Aufl. München. — *Löffler und Frosch, (1) Berichte der Kommission zur Erforschung der Maul- und Klauenseuche bei dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. XXIII, S. 371. — *Lüders, Johanna, (1) Bot. Zeit., 1866, S. 33 und Max Schultze's Arch., 1867, Bd. III, S. 317. — *Matzuschita, T., Z. f. Hyg., Bd. XXXV. — *Meyer, A., (1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. XXX, S. 49. — *Migula, W., (1) Ueber den Einfluß stark verdünnter Säurelösungen auf Algenzellen. Diss. Breslau 1888. (2) System der Bakterien 1897. — *Morck, D., (1) Ueber die Formen der Bakteroiden bei den einzelnen Spezies der Leguminosen. Diss. Leipzig 1891. — *Nägeli, (1) Gattungen einzelliger Algen. (2) in: Amtlicher Bericht über die 33. Versamml. deutsch. Naturf. u. Aerzte. Bonn 1857 (1859). (3) Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infektionskrankheiten und der Gesundheitspflege. 1877. — *Nocard und Roux, (1) Ann. Pasteur, 1898, Nr. 4. — *Schroeter, J., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz. (1872), Bd. I, H. 2, S. 109. — *Schwalbe, (1) Münch. med. Wochenschr., 1900, Nr. 47. — Smith, Th., (1) Ref. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. XXVII, S. 676. — *Stefansky, W. R., (1) Centralbl. f. Bakt., Bd. XXXI, Orig. S. 86. — *Stutzer, A., (1) Mitt. d. Deutsch. Landw. Ges., 1897, Stück 4, S. 45. (2) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. VII, S. 897. — *Vincent, H., (1) Arch. de méd. expér., 1902, T. XIV, Nr. 5. — *Warming, E., (1) Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bacterier. Kjöbenhavn 1876. — *Winogradsky, S., (1) Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien. I. Zur Morphologie und Physiologie der Schwefelbakterien. 1888. (2) Centralbl. f. Bakt., 1896, II. Abt., Bd. II, S. 415. — *Zopf, (1) Die Spaltpilze. I. Aufl. 1884, III. Aufl. 1885. Breslau.

(Manuskript-Einlauf: 13. Januar 1904.)

2. Kapitel.

Der Bau der Bakterienzelle.

§ 13. Die Zellmembran.

Bei der Kleinheit der Bakterien ist es begreiflich, daß über den 5 Bau ihrer Zellen noch verhältnismäßig wenig absolut sichere Angaben vorliegen, trotz der außerordentlich zahlreichen Arbeiten, die gerade in den letzten Jahren dieses Gebiet behandelt haben. Und daß fast jeder Forscher zu anderen Resultaten kam und andere Schlüsse aus dem Geschehenen zog, macht das Kapitel von dem Bau der Bakterienzelle zu 10 einem der schwierigsten aus dem Gebiete der Bakteriologie.

Darüber, daß die Bakterienzelle eine **Membran** und einen plasmatischen **Inhalt** besitzt, kann allerdings kein Zweifel mehr herrschen; über den Bau dieses plasmatischen Inhaltes werden aber zurzeit noch völlig entgegengesetzte Anschauungen vertreten. Insbesondere ist die Frage, ob den Bakterien Zellkerne zukommen oder nicht, noch offen; 5 von einem Teil der Bakteriologen wird das Vorhandensein von Zellkernen ebenso bestimmt behauptet, wie von einem anderen bestritten, und unter denen, welche einen Zellkern als vorhanden ansehen, herrschen wieder Meinungsverschiedenheiten über das, was als Zellkern zu betrachten sei. 10

So können wir zurzeit bezüglich des Baues der Bakterienzelle als gesichert nur das Vorhandensein einer Zellmembran und eines Protoplasten ansehen, dessen feineren Bau wir noch nicht mit hinreichender Sicherheit klarzustellen vermochten. Trotz Erforschung zahlreicher Einzelheiten kann man sich nicht rühmen, in den letzten 20 Jahren in 15 unserer Kenntnis vom Bau der Bakterienzelle einen wesentlichen Fortschritt erreicht zu haben. Aber es hat den Anschein, als ob dieses jetzt von so verschiedenen Forschern emsig in Angriff genommene Gebiet doch allmählich zugänglicher würde und als ob verschiedene hierher gehörige Fragen der Lösung nahe seien. 20

Das Vorhandensein einer von dem Zellinhalt deutlich verschiedenen und gegen ihn abgegrenzten **Membran** wurde bei den Bakterien zuerst von COHN (2) bestimmt ausgesprochen und damit bewiesen, daß durch Säuren und Alkalien keine Zerstörung der Bakterien eintritt, sowie, daß die Membran unter Umständen direkt unter dem Mikroskop zu beob- 25 achten ist. Das Letztere ist bei größeren fadenbildenden Arten ganz gut an den Teilungswänden zwischen zwei Zellen zu beobachten, wobei sich die Membran von dem Zellinhalt durch verschiedene Lichtbrechung deutlich unterscheidet. Weniger beweiskräftig ist seine Beobachtung, daß bei großen Formen und bei bestimmter Einstellung das schwärz- 30 liche Plasma von einem ziemlich breiten, gelblichen, anscheinend knorpeligen Rande eingefaßt erscheint, denn hier wirken zweifellos Lichtbrechungserscheinungen — ähnlich wie bei Fettröpfchen in Wasser — so sehr mit, daß kaum zu entscheiden sein dürfte, was davon auf Rechnung der Membran gesetzt werden muß. Ebenso hat sich seine 35 Annahme über die chemische Natur der Membran, wie an anderer Stelle noch weiter zu erörtern ist, nicht als richtig erwiesen.

Indessen wurde seit COHN's Arbeit das Vorhandensein einer Membran ziemlich allgemein angenommen und wurde durch ALFRED FISCHER's (1) Untersuchungen über die Plasmolyse der Bakterien aufs neue zweifellos 40 bestätigt. FISCHER zeigte, daß die Bakterien sich ganz ähnlich, wie andere Pflanzenzellen bei Einwirkung wasserentziehender Mittel verhalten, daß der Protoplast sich kontrahiert und von der dann deutlich sichtbar werdenden Membran ablöst.

Wenn zunächst von der chemischen Beschaffenheit der Membran, 45 die im Zusammenhang mit der der Pilzmembranen behandelt werden soll, abgesehen wird, so stellt sich die Zellhaut der Bakterien als zwar feine, aber ziemlich feste und starre, harte Hülle dar, die durchaus der niederer pflanzlicher Zellen gleicht. Sie fehlt den Bakterien in keinem Entwicklungsstadium, ist bei einigen großen Formen auch als deutlich 50 konturierte Doppellinie wahrnehmbar, in den meisten Fällen allerdings nicht direkt erkennbar, durch Plasmolyse aber stets sofort sichtbar zu machen. Nach FISCHER (3) besitzt sie ein größeres Lichtbrechungsver-

mögen, als der Zellinhalt, und nach Amann (1) soll sie doppeltbrechende Elemente enthalten, wenigstens beim Milzbrandbazillus weil sie sich in gefärbten Präparaten und in polarisiertem Licht pleïochroitisch zeigt.

Man kann jedoch bei genauerer Untersuchung wahrnehmen, daß die Membran nicht so einfach organisiert ist, sondern daß sie sogar wahrscheinlich einen ziemlich **komplizierten Bau** besitzt. Sie geht nämlich nach außen in eine zweite, dünnere und offenbar weit stärker wasserhaltige Hülle über, die jedoch bei den verschiedenen Arten und auch unter verschiedenen Ernährungsbedingungen ganz ungleich entwickelt sein kann. Dadurch erscheinen die Bakterien gegen außen nicht scharf begrenzt, was schon R. Koch (1) beobachtete. Diese zweite Hülle ist an lebenden Bakterien dann zu beobachten, wenn die Zellen dicht nebeneinander liegen, es bleibt dann ein allerdings sehr verschieden breiter Zwischenraum, den man an dem etwas verschiedenen Lichtbrechungsvermögen gegenüber dem umgebenden Wasser als durch eine andere Substanz eingenommen denken muß. An den einzelnen, isolierten Zellen ist die Hülle nur in einzelnen Fällen wahrzunehmen.

Diese zweite, **äußere Hülle** ist nicht ausschließlich als aufgequollene Außenschicht der eigentlichen Membran zu betrachten, sie verhält sich physikalisch und chemisch abweichend und ist, wie schon erwähnt, vielfach in ihrer Entwicklung von der Art der Ernährung abhängig. In ihrem Verhalten gegen Farbstoffe ist sie von der Membran gänzlich verschieden und nähert sich hier zum Teil den Geißeln; sie färbt sich bei vielen Bakterien ähnlich wie diese nach der Löffler'schen und van Ermengem'schen Methode. Dieses Verhalten sowohl als die Beobachtung an manchen Präparaten bestimmten mich (3) dazu, die Ansicht auszusprechen, daß die Geißeln direkt von dieser äußeren Hülle ausgingen und möglicherweise aus einer ähnlichen Substanz bestünden. Dieselben Gründe veranlaßten später Zettnow (1) die Bakterienzelle als aus **Endo- und Ectoplasma** bestehend aufzufassen; unter ersterem versteht er den durch gewöhnliche Methoden sich färbenden Teil, unter letzterem die Hülle und die Geißeln. Auch Gotschlich (1) schließt sich neuerdings dieser Auffassung an.

Wenn aber Gotschlich behauptet, daß diese äußere Hülle viel wasserärmer und resistenter sei, als der übrige Bakterienkörper, so ist das für alle von mir untersuchten Fälle entschieden unrichtig. Dieselben Bakterien, die lebend eine breite Schicht zwischen sich lassen, infolge der aneinanderstoßenden Hüllen, liegen in Trockenpräparaten, gefärbt, unmittelbar aneinander. Die Hülle zieht sich beim Eintrocknen in eine so dünne Schicht zusammen, daß sie in dem gefärbten und in Canadabalsam eingeschlossenen Präparat nicht mehr erkennbar ist. Dagegen zeigt die Hülle ein nicht unbeträchtliches Quellungsvermögen; werden Bakterien, auch geißellose, nach der Löffler'schen Methode gebeizt, ausgewaschen und ungefärbt untersucht, so kann man die Hülle in der Regel sehr deutlich und zwar breiter erkennen, als sie an lebenden Zellen der gleichen Art ist. Auch der von Gotschlich angeführte Grund für die relativ größere Wasserarmut der Hülle, daß sie sich Farbstoffen gegenüber weniger zugänglich erweist, als der übrige Bakterienkörper, ist nicht stichhaltig, sonst müßten sich die relativ wasserärmeren Zellkerne der Pflanzenzellen auch schwächer färben, als das übrige Plasma; hier entscheidet nicht der Wassergehalt sondern die chemische Beschaffenheit.

Schließlich mag noch eine Beobachtung Zettnow's erwähnt werden,

die mit denjenigen FISCHER's (1) und meinen eigenen in Widerspruch steht. Wenn er große Spirillen plasmolysierte, so konnte er an den Stellen, an welchen sich das Plasma zurückgezogen hatte, keine Zellmembran finden. Ich habe bei den gleichen Objekten eine solche Membran stets lückenlos beobachten können, besonders deutlich, wenn 5 man der Flüssigkeit minimale Mengen von Saffranin zusetzt. Sollte infolge der stärker lichtbrechenden Plasmolysierungsflüssigkeit die Zellmembran weniger gut sichtbar sein, so läßt sich diesem Uebelstand eben durch einen die Membran leicht färbenden Stoff leicht abhelfen. Ich kann mir in der Tat nur durch diese Annahme die Beobachtung 10 ZETTNOW's erklären.

Die Membran ist weniger intensiv färbbar als der Zellinhalt.

§ 14. Die Bildung von Zooglöen, Kapseln und Scheiden.

Die Membran der Bakterien zeigt unter Umständen nicht unbeträchtliche Abweichungen von dem gewöhnlichen Bilde, die zumeist auf 15 Eigentümlichkeiten der äußeren Hülle zurückzuführen sind. Je nachdem die äußersten Schichten derselben Neigung zur Erweichung, Verschleimung oder zur Verhärtung zeigen, kommt es zur Bildung von Zooglöen, Kapseln oder Scheiden.

Der Name **Zoogloea** wurde von COHN (1) zur Bezeichnung einer 20 Formgattung gebraucht, als deren Entwicklungszustand er gewisse freie Stäbchenbakterien, z. B. *Bacterium termo*, ansah. Er ließ sich dabei durch analoge Erscheinungen bei gewissen Algen leiten, bei denen ähnliche Zusammenlagerungen durchaus nicht selten sind. Es sind nach seiner Auffassung „diffuse oder geformte, unregelmäßig kugelige, traubige 25 oder schlauchartige, gelappte oder verzweigte, im Wasser schwimmende oder auf einer Unterlage ausgebreitete Gallertmassen, in welchen die Bakterienzellen bald mehr, bald weniger dicht eingelagert sind". Daß es sich bei diesen Bildungen nicht um eine eigene Gattung handelte, wurde von ihm später bald erkannt. Und in der Tat sind es Erscheinungen, 30 die allgemein bei den verschiedensten Bakterienarten zu beobachten sind und oft sehr wesentlich von den jeweiligen Lebensbedingungen beeinflußt werden. Aber nicht alles was man als Zooglöenbildung gewöhnlich bezeichnet, gehört wirklich hierher; man hat zwischen zwei ganz verschiedenen Prozessen zu unterscheiden. 35

Bei der Zooglöenbildung im eigentlichen Sinne kommt es zu einer schleimigen Auflösung der äußersten Schichten der Zellhülle. Diese Schleimbildungen finden sich oft sehr reichlich bei Bakterienvegetationen in faulenden Flüssigkeiten und als besonders schönes Beispiel ist COHN's *Ascococcus Billrothii* hierher zu ziehen. Ebenso sind 40 die Schleimmassen, die sich oft in ungewöhnlich reicher Weise in manchen Reinkulturen auf Agar-Agar entwickeln, solche Zooglöenbildungen. Die ausgeschiedene schleimige Substanz bei den sogenannten „Schleimgärungen" ist vermutlich ebenfalls oft auf einen reichlichen schleimigen Zerfall der äußeren Zellhülle zurückzuführen. Das Merkmal 45 aller dieser Zooglöenbildungen ist, daß die schleimige Grundsubstanz, in welcher die Bakterien eingebettet liegen, keinerlei Struktur erkennen läßt und sich nicht mehr als aufgequollene Membranschichten um einzelne Zellen oder Zellgruppen differenziert. Sie steht mit den Bakterien-

zellen in keinem organischen Zusammenhange mehr, sondern ist gewissermaßen nur ein Medium, in welches die Zellen eingebettet sind.

Als die einfachste Form der Zooglöenbildung können wir das Verbundenbleiben der vollständig geteilten und getrennten Zellen bei vielen 5 Bakterienarten ansehen. Ein kleiner Druck genügt dann schon, den ganzen Verband zu zerstören; dagegen hält er oft bei geringen Strömungen in Flüssigkeiten, z. B. unter dem Deckglas, zusammen. Gewöhnlich bemerkt man in solchen Anfängen der Zooglöenbildung gar keine zusammenhaltende Schleimschicht, sondern muß auf das Vorhanden- 10 sein einer solchen nur aus dem wenn auch lockeren Zusammenhang der Zellen schließen. Im allgemeinen scheinen flüssige Nährböden zur Bildung solcher Zoogloeaformen geeigneter zu sein, wie dies namentlich bei vielen Sarcinen deutlich hervortritt. Bei *Sarcina aurantiaca* z. B. bilden die Zellen auf festen Nährböden gewöhnlich ganz regellose Haufen, 15 in Heuaufguß bleiben sie zu Paketen zusammengeschlossen, ein Vorgang, der jedenfalls nur auf der Ausscheidung eines die Zellen fest zusammenhaltenden ziemlich konsistenten Schleimes beruht; die Hülle, welche die Zellen umgibt, löst sich auf festem Nährboden, verschleimt mehr und mehr, so daß sich die Zellen voneinander trennen, während sie in dem 20 flüssigen Heuinfus konsistent bleibt und auch bei wiederholten Teilungen geschlossen die ganze Zellgruppe so eng zusammenhält, daß sogar Abplattungen an den Berührungsflächen bestehen bleiben.

Im Gegensatz hierzu beruht die **Kapselbildung** auf einer verhältnismäßig geringen Verschleimung der äußeren Hülle, die im Gegenteil 25 mitunter in ihrer äußersten Schicht härter zu werden scheint. In beiden Fällen, sowohl bei Zoogloeabildung als bei der Entstehung deutlicher Kapseln ist allerdings eine besonders starke Entwicklung der äußeren Hülle Bedingung.

Kapseln sind bei einer großen Zahl von Bakterien bekannt gewor- 30 den, und Boni (1, 2) glaubt sogar eine Methode gefunden zu haben, die Kapseln bei allen Bakterien nachzuweisen; indessen handelt es sich bei seinen Präparaten um die äußere gallertartige Hülle, deren Existenz ich (3) bereits 1897 für alle Bakterien behauptet habe. Als Kapsel haben wir diese Hülle nur dann zu bezeichnen, wenn sie auffallend 35 stark entwickelt und scharf nach außen abgegrenzt ist. Andrerseits sind vielfach, wie auch Fischer (2, S. 95) hervorhebt, Dinge als Kapseln beschrieben worden, die entweder durch mangelhafte Präparation entstanden sind, oder aber ihren Ursprung in Dingen haben, die gar nicht mit den Bakterien selbst in Zusammenhang stehen.

40 Solche **falsche Kapseln** können zunächst dadurch entstehen, daß ausgeschiedene Schleimmassen, „Zoogloeaschleim", sich intensiv mitfärbt und um die Bakterien dann eine gefärbte Hülle bildet. Daß es keine echten Kapseln sind, kann man leicht daran erkennen, daß diese gefärbten Schichten nicht scharf konturiert sind und daß oft eine ganze Anzahl 45 Zellen in einer solchen Schicht eingebettet liegen. Auf diese Weise sind die Bilder entstanden, wie man sie vielfach in Präparaten von sehr schleimigen Kulturen zu sehen bekommt. Ebenso können bei geißeltragenden Bakterien falsche Kapseln entstehen, wenn die Geißeln infolge irgend welcher schädlicher Einflüsse zerfließen; der aus ihnen sich 50 bildende Schleim stellt dann eine Hülle um den Zelleib dar, welche allerdings nur bei Geißelfärbungen erkennbar ist und dann oft ganz das Bild einer echten Kapsel bietet; solche Bilder sind ebenfalls nicht selten zu erhalten.

Schließlich wird aber sehr oft bei Färbungen von bakterienhaltigen Gewebssäften in Ausstrichpräparaten etwas für eine Kapsel angesehen, was überhaupt nur ein leerer ungefärbter Raum ist. Und diese von mir als **Pseudokapseln** (*Taf. I, Fig. 9*) bezeichneten Bildungen kommen dadurch zustande, daß der Gewebssaft früher eintrocknet als die gallertartige Hülle der Bakterien. Diese zieht sich allmählich von dem eingetrockneten Gewebssaft zurück und bildet schließlich eine ganz dünne Schicht um den Zelleib der Bakterien; zwischen diesen und dem Gewebssaft ist dann ein freier ringförmiger Streifen ohne färbbare Substanzen auf dem Deckglas vorhanden, der allerdings leicht zu der Vermutung Veranlassung geben kann, daß er von einer ungefärbt bleibenden Kapsel eingenommen wird. Aber auch durch die zur Färbung von Kapseln geeigneten Methoden läßt sich in solchen Fällen niemals eine Färbung erzielen.

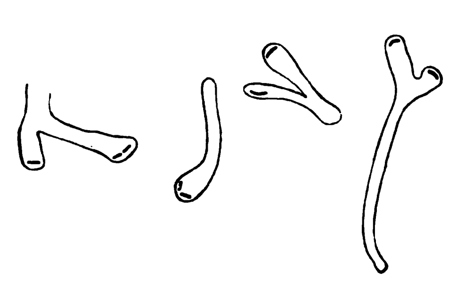


Fig. 6. Bacterium pediculatum. Die Schleimhüllen einseitig zu stielartigen Gebilden entwickelt. Vergr. 370. Nach A. Koch und H. Hosaeus.

In der Tat sind alle diese falschen Kapseln häufig als echte in der Literatur beschrieben und man wird deshalb gut tun, namentlich frühere Angaben über Bakterienkapseln etwas kritisch zu behandeln.

Echte Kapseln sind vielleicht am längsten bei dem Froschlaichpilz (*Leuconostoc* oder *Streptococcus mesenterioides*) bekannt (van Tieghem [1]), deren Dimensionen allerdings auch ganz enorme sind. Sie sind deshalb als Kapseln zu bezeichnen, weil sie, trotzdem sie oft ganze Reihen von Zellen umschließen, doch nach außen scharf abgegrenzt sind, und, solange die Zellen in lebhafter Vegetation sich befinden, auch keine Auflösung in Schleim erkennen lassen (*Taf. I, Fig. 5*). Daran ändert auch die Tatsache nichts, daß ganze Gruppen solcher eingekapselter Ketten wieder zusammenkleben und oft noch von den Hüllen vorhergehender Generationen eingeschlossen sind. Die Kapseln können unter Umständen den Durchmesser der eigentlichen Zelle um das 10—20fache übertreffen, stellen eine weiche, gallertartige, sehr wasserreiche Masse dar und färben sich nicht oder nur unbedeutend mit den gewöhnlich angewandten Farbstofflösungen.

Wie sehr übrigens die Kapselbildung von den Ernährungsverhältnissen abhängig ist und wie wenig sie gerade deshalb als Gattungscharakter verwendbar wird, zeigen eben die verschiedenen von Zopf und Liesenberg (1) mit dem Froschlaichpilz ausgeführten Versuche. Die Kapsel bildet sich nämlich nur bei reichlicher Anwesenheit von vergärbaren Kohlenhydraten, z. B. Rohrzucker. Der Organismus wächst z. B. auf gewöhnlichem Nähragar ausgezeichnet, aber ohne jede Spur von Gallertbildungen als einfacher Streptokokkus (*Taf. I, Fig. 6*). Abgesehen von dem Milzbrandbazillus ist der Froschlaichpilz übrigens die einzige Art, bei der wir über die beim Zustandekommen der Kapsel beteiligten Faktoren etwas wissen, im übrigen sind uns diese Verhältnisse noch ziemlich unbekannt.

Ganz eigentümlich ist eine Gallertausscheidung bei einigen wenigen Organismen, die jedoch nur selten zur Beobachtung kamen, nämlich bei *Nevskia ramosa* und *Bacterium pediculatum*. Die letztere, von Koch und Hosaeus (1) beschriebene Art bildet ziemlich feste, hellbräunlich gefärbte Gallertmassen, welche unter dem Deckglas zerdrückt, wirr verschlungene, kurze, dicke, wurstförmige, oft verzweigte Fäden zeigen. Beim Erwärmen auf dem Deckgläschen verschwinden diese Fäden, indem sie sich in der Flüssigkeit lösen und es treten nun dünne Bakterienstäbchen hervor. Bei Färbung der nicht erwärmten Gallertfäden werden am Ende jedes Fadens resp. jeder Verzweigung die blau gefärbten Stäbchen in dem ungefärbten Gallertfaden sichtbar. Die Stäbchen scheiden also nur nach einer Seite hin Gallertmassen ab, ähnlich wie dies bei manchen gestielten Diatomeen z. B. *Gomphonema* der Fall ist (s. *Fig. 6*).

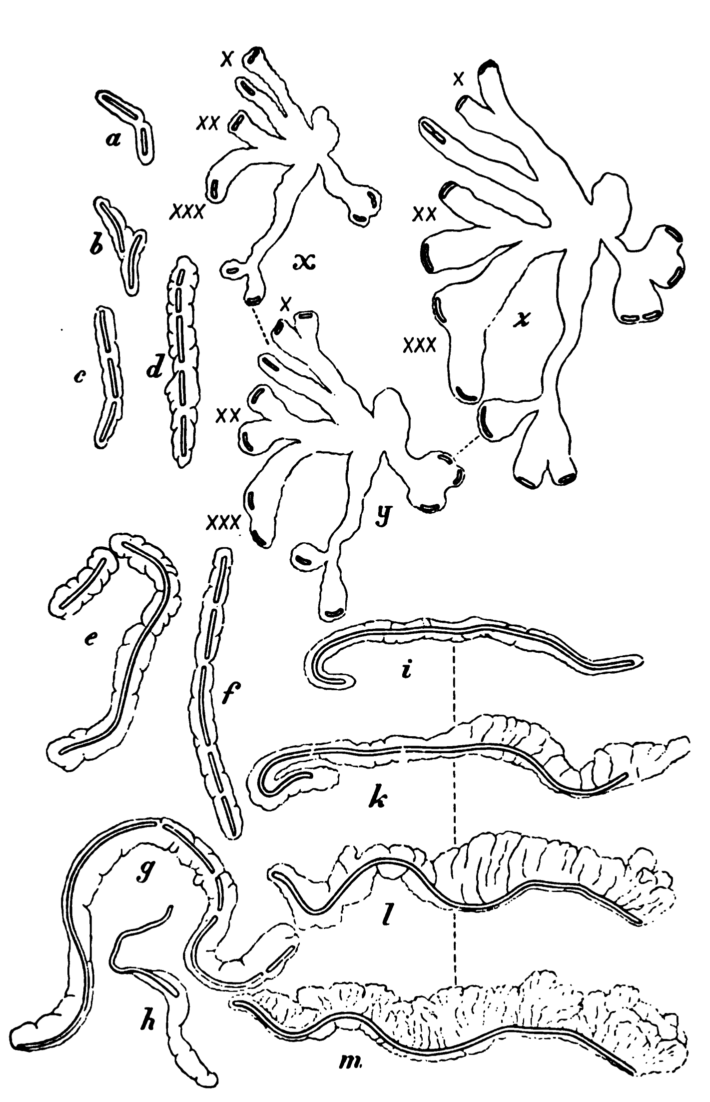


Fig. 7. Bacterium vermiforme.

a–h die allmähliche Ausbildung der Zellen und Zellverbände zur Wurmgestalt. *i—m* Entwicklung einer einseitig sich vergrößernden Hülle. Vergr. 680. *x—z* Verwachsung (Verschmelzung) solcher einseitig verdickter Zellmembranen zu ästigen Gebilden, deren Zweige an ihren Enden die Zellen selbst erkennen lassen. Zucht in Gingerbeer-Nährgelatine; *x* beobachtet um 10 Uhr vorm.; *y* dasselbe um 4 Uhr nachm.; *z* um 10 Uhr des folgenden Tages. Die mit X, XX, XXX bezeichneten Stellen entsprechen einander. Vergr. 420. Nach Ward.

Die von Famintzin (1) beschriebene *Newskia ramosa* scheidet in ganz ähnlicher Weise einseitig Gallertmassen ab, wie *Bacterium pediculatum*, nur bilden die Gallertmassen noch weit umfangreichere, verzweigte Klümpchen (*Taf. I, Fig. 7*). Vielleicht sind auch Thaxter's (1) Myxobakterien sowie Metschnikoff's *Pasteuria ramosa* nichts anderes 5 als durch eigentümliche Gallertbildungen ausgezeichnete Bakterien, doch sind dieselben noch nicht genügend untersucht.

Durch oft ausgesprochen einseitige Gallertabsonderung zeichnet sich auch das *Bacterium vermiforme*, der Organismus der „Ginger-beer plant“ aus, allerdings nicht so regelmäßig, denn oft, namentlich in Jugendzuständen, 10 bildet die Gallerthülle eine echte Kapsel von regelmäßiger Gestalt um die Zelle. Später aber wird die Gallerte mehr einseitig abgesondert und es entstehen dann entweder ähnliche Bildungen wie bei *Newskia ramosa* oder eigentümlich wurmförmige Fäden mit gelappten Gallertanhängseln (*Fig. 7*). 15

Daß auch diese einseitigen Gallertabscheidungen in engem Zusammenhang mit der Kapselbildung stehen und als einseitig entwickelte Kapseln zu deuten sind, ist nicht nur aus dem ähnlichen Verhalten der Gallertbildungen gegenüber den Farbstoffen zu vermuten, sondern auch besonders dadurch sehr wahrscheinlich, daß man bei dem zuletzt ge- 20 nannten Organismus, dem *Bacterium vermiforme* alle Uebergänge von Kapseln bis zu den verzweigten dicken Gallertstielen findet. Die chemische Natur der Gallertmassen mag freilich mitunter verschieden sein, wie es überhaupt wahrscheinlich ist, daß dieselbe bis zu einem gewissen Grade von den Ernährungsverhältnissen abhängig ist. 25

Im allgemeinen werden unter dem Namen **„Kapselbakterien“** in der bakteriologischen Literatur eine Gruppe bestimmter Bakterien verstanden, die mehr für die Mediziner von Bedeutung sind, hier aber nicht ganz übergangen werden können, weil ein Teil unserer allgemeinen Kenntnisse über Kapseln an ihnen gewonnen worden sind. Hierzu sind 30 besonders der Friedlaender'sche Pneumokokkus (*Bacterium pneumonicum*), der Fraenkel'sche Diplokokkus der Pneumonie (*Bacterium pneumoniae*), ferner *Bacterium capsulatum* und *Micrococcus tetragenus* zu rechnen (*Taf. I, Fig. 4*). Auch der Milzbrandbazillus besitzt eine Kapsel (*Taf. I, Fig. 8*). Neben diesen gibt es noch zahlreiche andere pathogene Arten 35 von geringerer Bedeutung, sowie einige nichtpathogene, wie die von mir im Wasser gefundene *Pseudomonas capsulata* (*Taf. I, Fig. 3*) und ein in flüssiger chinesischer Tusche vorkommendes Bakterium (*Bacterium chinense*).

Bei den genannten pathogenen Bakterien erscheint es auffallend, 40 daß eine Kapsel im allgemeinen nur im Tierkörper gebildet wird und sich nur in Schnittpräparaten von tierischem Gewebe, besonders aber auch in Gewebssäften nachweisen läßt. Sie ist meist ziemlich stark entwickelt bei dem Friedlaender'schen Pneumokokkus und bei *Bacterium capsulatum*, sehr stark, oft fast an die Bildungen beim Frosch- 45 laichpilz erinnernd bei *Micrococcus tetragenus*, wesentlich schwächer bei dem Fraenkel'schen Diplokokkus. In künstlichen Kulturen ist die Kapsel nur selten deutlich erkennbar und verschwindet mehr und mehr, je länger die Art kultiviert wird. Bei den nichtpathogenen Arten dagegen hält die Kapselbildung auch in künstlichen Kulturen ziemlich 50 lange an, verschwindet aber auch in der Regel nach jahrelanger Züchtung.

Ueber die Kapselbildung des Milzbrandbazillus liegen zahlreiche Untersuchungen vor. Sie wurde zuerst von Serafini (1) beobachtet,

später von Johne (1), Kern (1), Binaghi (1), Boni (1, 2) und anderen wiederholt untersucht, besonders weil man in dem Vorhandensein einer Kapsel beim Milzbrandbazillus ein brauchbares Merkmal zur Schnelldiagnose gegenüber anderen morphologisch ähnlichen Bakterien gefunden zu haben glaubte. Daß dies nur mit gewissen Einschränkungen richtig ist, konnte ich (2) dadurch nachweisen, daß auch bei anderen ähnlichen Bakterien in verschiedenen Faulflüssigkeiten mit den gleichen Methoden Kapseln nachzuweisen waren. Die Kapsel ist also schon aus diesem Grunde auch als Artmerkmal nur mit Vorsicht zu betrachten, denn bei den weitaus meisten Arten ist der Versuch, durch spezifische Färbemethoden eine Kapsel nachzuweisen, noch gar nicht gemacht worden.

Auch beim Milzbrandbazillus nahm man zunächst an, daß eine Kapsel nur im Tierkörper entwickelt wird. Dann fand man auch, daß auf frischer, ungekochter Milz im Brutschrank Kapseln gebildet wurden und zwar meist besser und größer als im Blut lebender oder an Milzbrand verendeter Tiere. Schließlich wurde besonders von Kern (1) der Nachweis erbracht, daß auch in künstlichen Kulturen der Milzbrandbazillus Kapseln bildet, obwohl dieselben weniger groß und weniger deutlich als in den oben beschriebenen Fällen erscheinen. Was Kern übrigens hier als Kapsel auffaßt, ist vielfach, ihren Dimensionen nach, nicht mehr recht als solche zu bezeichnen, sondern eben nur jene äußere Gallerthülle, die sich bei allen Bakterien findet und unter gewissen Färbebedingungen auch bei allen Bakterien sichtbar gemacht werden kann. Wenn man von Kapseln spricht, ist in erster Linie auch eine bedeutendere räumliche Ausdehnung dieser Hülle, als sie allgemein den Bakterien zukommt, vorauszusetzen.

Mit der Kapselbildung hat die **Scheidenbildung** einiger hochentwickelter Fadenbakterien eine nahe Verwandtschaft. Als scheidenbildende Bakterien sind beispielsweise zu nennen: *Crenothrix Kühniana*, *Leptothrix ochracea* (*Chlamydothrix ochracea*) und *Cladothrix dichotoma* (*Sphaerotilus dichotomus*). Die Scheide ist an jungen Fäden oder an den fortwachsenden Spitzen älterer Fäden gewöhnlich nicht sichtbar, tritt an älteren Teilen als zartes dünnes den Faden umschließendes Häutchen auf und kann schließlich an den ältesten Teilen eine Dicke erreichen, die derjenigen der eigentlichen Zelle gleich kommt. Sie ist in diesem letzteren Stadium eine sehr derbe feste Hülle, jedenfalls viel resistenter als die Bakterienkapseln und bleibt in der Regel noch lange bestehen, wenn die von ihr umschlossenen Zellen schon längst verschwunden sind. Besonders ist dies bei *Leptothrix ochracea*, der „Ockeralge", der Fall; in dem ockergelben von dieser Bakterienart bewohnten Schlamm sieht man oft nur noch ungeheure Massen leerer Scheiden, die sich vielleicht jahrelang halten können, ehe sie sich zersetzen.

Die Scheiden entstehen offenbar aus den äußersten Schichten der Zellmembranen und bleiben mit diesen so lange in festem Zusammenhange, als sie noch wachsen. Später aber scheint dieser Zusammenhang dadurch gelockert zu werden, daß die ursprünglich sehr dehnbare junge Scheide bei zunehmender Dicke an Elastizität verliert und in den äußeren Schichten verhärtet, während eine mittlere Schicht zwischen der eigentlichen Scheide und der später sich loslösenden Zellmembran weicher bleibt. Da sich die Zellen auch in den älteren Teilen des Fadens vermehren und wachsen, die Scheide aber mit diesem Wachstum nicht Schritt halten kann, lösen sich die Zellmembranen in der weich bleibenden Zone allmählich von der Scheide ab und gleiten in dieser

fort. Ist diese Zone jedoch nicht so weich, daß eine solche Verschiebung auf weitere Strecken möglich ist, so kommt es, wie bei *Cladothrix dichotoma*, stellenweise zu einem Durchbrechen der Scheide; die Zellen werden infolge der Spannung aus der Durchbruchsstelle herausgedrängt und es entsteht eine **„falsche Verzweigung“** (Pseudodichotomie), die für diese 5 Art charakteristisch ist (*Taf. I, Fig. 10*).

Bei einer verwandten Art, *Sphaerotilus natans*, liegen die Verhältnisse etwas anders. Hier bleibt die Scheide viel elastischer, und die Zone, in welcher eine Loslösung der Zellen vor sich geht, ist viel weniger resistent, so daß es zu keinem Zerreißen der Scheide kommt. 10 Dieselbe erweitert sich vielmehr bei infolge des Wachstums der Zellen eintretender Spannung oft sehr bedeutend, so daß die Zellfäden zwar innerhalb der Scheide brechen und nebeneinander herwachsen, aber eine Astbildung nicht stattfindet. Uebrigens ist die Umgrenzung der Arten noch sehr unsicher und verschiedene Abweichungen von diesem ge- 15 schilderten Typus sind vielleicht darauf zurückzuführen, daß es sich um verschiedene, zurzeit noch zusammengeworfene Arten handelt.

Eine Eigentümlichkeit der Scheide bei manchen Arten ist hier noch kurz zu erwähnen, da das Aussehen der Fäden hierdurch wesentlich verändert wird: die Einlagerung von Eisenoxydhydrat. Diese Einlage- 20 rung findet am meisten bei *Leptothrix ochracea* und *Crenothrix Kühniana* statt; hier werden die Scheiden durch die Ockerbildung oft völlig undurchsichtig und so beträchtlich aufgetrieben, daß sie den Durchmesser der eigentlichen Zellen oft übertreffen. Sehr oft kann man erst durch Einwirkung von Salzsäure über diese Bildungen Aufschluß erhalten; 25 das Eisenoxydhydrat wird dann gelöst und die farblosen Scheiden werden erkennbar. Man nimmt dann auch wahr, daß diese dick mit Ocker inkrustierten — denn es handelt sich nicht bloß um eine Einlagerung, sondern auch um eine Anlagerung — Scheiden gewöhnlich leer sind und nur noch selten lebende Zellen enthalten. Bei *Cladothrix* 30 *dichotoma*, die ich für eine Sammelspezies ansehe, scheint nur einem Teil der hierhergezogenen Formen die Fähigkeit, Eisenoxydhydrat in den Scheiden abzulagern, zuzukommen; andere Formen zeigen, wie mich eigene Kulturen belehrten, unter gleichen Bedingungen keine Ockerablagerungen. Nähere Angaben darüber sind in dem von den Eisen- 35 bakterien handelnden Kapitel des 2. Abschnittes des 3. Bandes zu finden.

§ 15. Der Zellinhalt.

Der Zellinhalt verhält sich, wie Fischer (1) gezeigt hat, bei der Anwendung von Wasser entziehenden Mitteln genau so wie das Plasma der verschiedenen Pflanzenzellen; er weicht von der Zellwand zurück, 40 solange die Wasserentziehung dauert und dehnt sich wieder bis zur Membran aus, sobald ein osmotisches Gleichgewicht zwischen dem Zellinhalt und der außerhalb befindlichen Flüssigkeit hergestellt ist (*Taf. I, Fig. 1* und Erklärung).

Schon diese, bei der Plasmolyse auftretenden Erscheinungen 45 lassen darauf schließen, daß der Zellinhalt ähnlich wie bei anderen Pflanzenzellen gebaut sein wird und insbesondere aus einem protoplasmatischen Wandbelag und einem aus einer oder mehreren Vakuolen gebildeten Zellsaftraum bestehen wird. Ob in dem protoplasmatischen Wandbelag auch kernartige Elemente vorhanden sind, kommt zunächst 50

nicht in Frage, es handelt sich vorläufig nur darum, festzustellen, ob die oben erwähnte, dem Inhalt der Pflanzenzellen allgemein zukommende Struktur auch bei den Bakterien vorhanden ist oder nicht.

Der von den Botanikern fast allgemein vertretenen Auffassung, daß 5 der Zellinhalt der Bakterien ähnlich, wie bei anderen Pflanzenzellen organisiert sei, steht nämlich eine andere entgegen, die bei Zoologen und Medizinern Anklang findet und zuerst von Bütschli (1) ausgesprochen worden ist. Nach Bütschli besitzt das Plasma der Bakterien, ebenso wie das anderer Organismen, eine wabige Struktur, besteht aus einem 10 von Waben durchsetztem Gerüstwerke. Er kann ferner einen großen zentralen Teil, den **Zentralkörper,** von einer peripheren Rindenschicht unterscheiden; letztere kann bei den kleinen Formen oft ganz verschwinden, so daß der Zentralkörper von der Membran direkt umgeben wird. Da er nun den Zentralkörper als Zellkern betrachtet, so würde 15 eine Zelle aus Zellkern und Membran, ohne Plasma resultieren, ein Fall, der sonst in der Pflanzenwelt kein Analogon hätte. Indessen ist bereits von Klebs (1) und Hueppe (1) diese Ansicht von der Kernnatur des ganzen Inhaltes der Bakterienzelle wegen seines Verhaltens Farbstoffen gegenüber ausgesprochen worden und außerdem sprach auch der 20 kurz vorher von Zacharias (1, 2) klargestellte Bau der verwandten Cyanophyceen für Bütschli's Auffassung. Es ist deshalb begreiflich, daß Bütschli's Ansicht, so fremdartig sie auch erscheinen mochte, doch bald Anhänger fand, die freilich meist in dem einen oder anderen Punkte von seinen Darstellungen abwichen.

25 So kommt Wahrlich (1) fast zu dem gleichen Resultat wie Bütschli: „Die Zellen der meisten untersuchten Bakterien stellen augenscheinlich nur Kerne dar, welche direkt von einer Zellhaut umgeben sind, und enthalten kein Cytoplasma." Wahrlich fand nämlich keine Rindenschicht oder Spuren einer solchen, welche von Bütschli als Cytoplasma angesehen 30 werden. Auch Frenzel (1) findet bei seinem aus Anurenlarven gezüchteten grünen „Kaulquappenbazillus" einen Zentralkörper, der dem von Bütschli gesehenen entspricht.

Zettnow (1) schloß sich anfangs der Deutung Bütschli's an; er faßte den ganzen intensiv färbbaren Teil der Bakterienzelle als Kern 35 auf, den bei seinen großen Spirillen an den Polen meist freibleibenden schwächer gefärbten Teil als Reste von Plasma. In einer späteren Arbeit gibt er (2) jedoch diese Anschauung auf und glaubt, daß die Kernsubstanz in der Bakterienzelle noch diffus im Plasma verteilt sei, daß also der färbbare Teil der Bakterienzelle Plasma und Kernsubstanz 40 untermischt enthalte. Schewiakoff findet bei *Achromatium oxaliferum* denselben Bau, wie Bütschli ihn bei den Bakterien gefunden hatte.

Zettnow's letztgeäußerte Ansicht ist übrigens in ganz ähnlicher Weise schon von Weigert (1) ausgesprochen worden, welcher besonders wegen der intensiven Tingierbarkeit der Bakterienzelle annimmt, daß die 45 Elemente des Kernes noch vermischt mit dem übrigen Plasma bei den Bakterien seien. Auch Mitrophanow (1) und neuerdings Gotschlich schließen sich dieser Ansicht an.

Damit ist allerdings auch schon Bütschli's Zentralkörper aufgegeben und eine Vorstellung von dem Bau der Bakterienzelle gewonnen, die 50 eher mit der uns bekannten Natur der Pflanzenzelle übereinstimmt. Bütschli selbst hält allerdings auch neuerdings (3) noch an seiner Anschauung fest. Er stützt dieselbe vor allen Dingen auf gewisse Erscheinungen, die er bei Färbung mit verschiedenen Farbstoffen, besonders Hämatoxylin

beobachtete, läßt aber andere, für die Natur des pflanzlichen Zellkernes sowie des Baues der Pflanzenzelle entscheidende Fragen ganz unbeachtet.

Mit Recht wird ihm deshalb von FISCHER (2) vorgeworfen, daß seine Ansicht über die Kernnatur des Zellinhaltes auf sehr wenig beweiskräftigen Färbungsphänomenen beruhe. Vor allen Dingen läßt sich aber 5 die Plasmolysierbarkeit des Bakterieninhaltes nicht mit der Zellkernnatur desselben in Uebereinstimmung bringen, ganz abgesehen davon, daß Zellen ohne Cytoplasma von vornherein nicht wahrscheinlich sind.

Als ich (1) bei *Bacillus oxalaticus*, der allerdings ein besonders günstiges Objekt für diese Studien bietet, deutlich eine zentrale Vakuole 10 und eine verhältnismäßig dünne plasmatische Wandschicht beobachtete, die sich bei Plasmolyse von der Membran zurückzog, während die zentrale Vakuole sich bis fast zum Verschwinden verkleinerte, konnte ich wenigstens für diesen Organismus mit Sicherheit das Fehlen eines Zentralkörpers im Sinne BÜTSCHLI's nachweisen. Neuerdings zeigt 15 MEYER (5), daß ein Zentralkörper, der im Sinne BÜTSCHLI's als Zellkern zu deuten wäre, wegen der Bildung von Fett, Glykogen und Volutin und, wie ich hinzufügen möchte, von dem granuloseähnlichen Kohlenhydrat, unmöglich bei den Bakterien angenommen werden kann.

So wird denn die Auffassung BÜTSCHLI's von dem Bau der Bakterien- 20 zelle zurzeit wohl nur noch wenig Anhänger finden, und die gegenwärtig herrschende, durch vielfach überzeugende Beobachtungen gestützte Vorstellung von dem Zellenbau der Bakterien nimmt eine Membran, einen protoplasmatischen Wandbelag und einen Zellsaftraum an.

Das Vorhandensein von **Zellsafträumen** wurde jedoch auch von 25 Botanikern früher für Bakterien nicht durchweg angenommen, sondern es wurde nur ganz allgemein von einem stickstoffhaltigen oder plasmatischen Inhalt gesprochen, während man nur vereinzelt, wie bei *Crenothrix*, auch einen Zellsaftraum beobachtete. ZOPF (1) sagt noch 1885: „Der Inhalt der Spaltpilzzelle ist homogenes Plasma . . .“ und „Vakuolen- 30 bildung ist in den Spaltpilzzellen selten und tritt, wie es scheint, nur bei den größeren weitlumigen Formen (z. B. *Monas*-Formen, *Monas Okenii*) auf. Erst FISCHER's (1) Arbeit über die Plasmolyse der Bakterien ließ mit ziemlicher Sicherheit erkennen, daß auch bei den kleinsten Bakterien Zellsafträume vorhanden seien, wenn dieselben auch nicht notwendig 35 immer in Form einer großen zentralen Vakuole auftreten mußten, wie FISCHER meinte. Daß diese Vakuolen meiner Auffassung nach nicht immer zentrale Zellsafträume zu sein brauchten, hob ich (3, S. 79) auf Grund einiger Beobachtungen (an *Bacillus coli*) hervor, obwohl auch ich der Annahme war, daß in den meisten Fällen ein zentraler Zell- 40 saftraum vorhanden sein dürfte. Einen solchen konnte ich (1) zuerst bei *Bacillus oxalaticus*, später, wenn auch viel weniger deutlich, bei anderen Bakterien erkennen.

In den jungen, aus der Sporenhaut ausgetretenen Stäbchen des *Bacillus oxalaticus* ist der Zellinhalt vollständig homogen, ohne eine 45 Spur irgend einer Differenzierung (*Taf. I, Fig. 1, a*). Auch bei Fixierung und Färbung nach verschiedenen Methoden konnte ich keinen Zellsaftraum, keine Körnchen oder Zentralkörper wahrnehmen. Erst allmählich tritt ein kleines zentrales Gebilde, welches beim Wachstum der Zelle bald auch an Größe zunimmt und sich dann auch deutlicher von dem wand- 50 ständigen Plasma unterscheidet, hervor. Es ist dies nicht der Zentralkörper BÜTSCHLI's, sondern ein zentraler Zellsaftraum, mit wässeriger Flüssigkeit gefüllt, die das Licht schwächer bricht, als das umgebende

Plasma (*Taf. I, Fig. 2, b, c*). Wendet man wasserentziehende Mittel, wie Salpeterlösung an, so zieht sich der plasmatische Wandbelag zurück, die zentrale Vakuole wird kleiner bis fast zum völligen Verschwinden (*Taf. I, Fig. 1, b*), während sie sofort wieder wächst, wenn die Salpeterlösung durch Wasser ersetzt wird. Hier finden sich also ganz analoge Erscheinungen wie bei anderen Pflanzenzellen und das Vorhandensein einer zentralen Vakuole ist hiernach nicht mehr zu bezweifeln. Wäre ein Zentralkörper im Sinne Bütschli's vorhanden, so könnte er durch Plasmolyse nicht zum Verschwinden gebracht werden.

Später sind dann Vakuolen ganz allgemein bei Bakterien gefunden worden; so in ganz ähnlicher Weise wie bei *Bacillus oxalaticus* z. B. bei *Bacillus sporonema*, wo Schaudinn (1) sie auch so abbildet wie bei erstgenanntem Organismus. Nicht immer stellen sie aber einen zentralen Zellsaftraum dar; Grimme (1) bildet sie bei *Bacillus tumescens* als mehrere durch Plasmamassen getrennte, rundliche Gebilde ab. Relativ große, durch Plasmaplatten getrennte Vakuolen besitzt nach Hinze's (1) Abbildung *Beggiatoa mirabilis*.

Wo eine zentrale Vakuole vorhanden war, ist sie in früherer und zum Teil auch noch in neuerer Zeit oft für einen zentral gelagerten Zellkern gehalten worden. Wenigstens möchte ich einen großen Teil der nachstehend erwähnten Befunde darauf zurückführen, ohne die Möglichkeit zu bestreiten, daß in dem einen oder anderen Fall auch etwas anderes der Beobachtung zugrunde gelegen hat, dessen Kontrolle jedoch kaum mehr möglich erscheint. Auch bei Bütschli's Zentralkörper spielt meiner Ansicht nach ein zentraler Zellsaftraum die Hauptrolle.

Der erste, der bei Bakterien einen zentral gelagerten **Zellkern** wahrzunehmen glaubte, war Schottelius (1), und zwar zuerst und am deutlichsten beim Milzbrandbazillus, später auch bei allen anderen ihm zugänglichen Bakterienarten. Nur bei sehr genauer Einstellung erscheint er dann von einer Zone helleren Plasmas umgeben als dunklerer Körper und zwar nur in lebenskräftigen Zellen, in absterbenden soll er in Körnchen zerfallen. Auch in gefärbten Zellen war der zentrale Körper von dem ungefärbten Plasma als dunkler gefärbte Masse zu unterscheiden. Teils mögen nun an dem Zustandekommen dieser von Schottelius gesehenen Bilder tatsächlich zentrale Vakuolen, teils Lichtbrechungsphänomene die Schuld tragen, worauf namentlich die Angabe Schottelius' hinweist, daß nur bei sehr genauer Einstellung der Zellkern zu erkennen ist. Und daß er dunkler als das umgebende Plasma, also anscheinend weniger stark lichtbrechend als dieses erscheint, spricht ebenfalls nicht sonderlich für die Zellkernnatur.

Ferner beobachtete Wager (1) bei einem aus einer Kahmhaut stammenden Bazillus einen zentral gelegenen Körper, der aus zwei stärker färbbaren von einer Membran umgebenen Stäbchen bestand, die durch eine schwächer färbbare Masse getrennt waren und von einer schwach färbbaren Plasmamasse umgeben wurden. Bei diesem von Wager als Kern gedeuteten Gebilde, wurde auch eine Teilung beobachtet, die als einfache Durchschnürung in der Mitte erfolgte. Die Aehnlichkeit mit den später zu besprechenden Erscheinungen bei Teilung der Vakuolen ist so auffallend, daß auch hier wohl eine solche zur Deutung als Zellkern Veranlassung gegeben hat.

Sehr schwer zu deuten sind die Angaben von Trambusti und Galeotti (1); sie werfen Körnchen und Vakuolen offenbar durcheinander und haben wahrscheinlich einen Organismus vor sich gehabt, der mehrere

Vakuolen in der Zelle in Form von kleinen runden Bläschen besaß. Die jungen Zellen dieses aus Wasser gezüchteten Bazillus färben sich mit Saffranin anfangs gleichmäßig, in älteren Zuständen dagegen lassen sich stärker gefärbte, stäbchenförmige, zentrale Körper erkennen, die von blaßrosa gefärbten helleren Zonen umgeben sind. Letztere dehnen sich 5 allmählich mehr und mehr aus, während die zentralen Körper gleichzeitig in eine Anzahl Körnchen zerfallen, die sich zuerst peripher, dann in verschiedenen Kranzformen anordnen und sich zu verbinden suchen. Dadurch entstehen geschlossene ovale Ringe zu 3—4 in jeder ursprünglichen Bakterienzelle; letztere platzt schließlich und läßt diese ovoiden 10 Formen austreten, welche wieder zu neuen Stäbchen heranwachsen. Nach ihrer Auffassung, ähnlich der Bütschli's, ist die Bakterienzelle ein von der Membran umgebener Zellkern, dessen Chromatin die geschilderten merkwürdigen Prozesse durchmacht. Manche Angaben der beiden Forscher sind sicher auf Beobachtungs- resp. Präparationsfehler 15 zurückzuführen, so das Platzen der Zelle und das dadurch herbeigeführte Freiwerden der 3—4 Tochterzellen. Denn ein solcher Vorgang kommt bei den Bakterien der ganzen Art und Weise ihrer vegetativen Entwicklung nach nicht vor. Und selbst wenn man es hier mit einer Ausnahme unter den Bakterien zu tun haben sollte, so finden wir doch 20 unter anderen Mikroorganismen für derartige eigentümliche vegetative Vermehrung kein Beispiel. Da übrigens alle diese Untersuchungsergebnisse an fixierten und gefärbten Präparaten, nicht genügend kontrolliert durch Beobachtung an lebendem Material gewonnen wurden, so werden mancherlei Kunstprodukte als natürliche Phasen des Entwick- 25 lungsganges aufgefaßt worden sein.

Feinberg (1) läßt bei seinen Untersuchungen die Körnchen unbeachtet und kommt auf Grund der Bilder, die er bei Anwendung der Romanowski'schen Färbung und nachheriger Entfärbung durch Alkohol erhalten hat, zu der Ansicht, daß der blau gefärbte periphere Teil des 30 Bakterienkörpers das Plasma, der rot gefärbte zentrale den Zellkern darstelle. Dieser zentrale Teil ist bei manchen Arten z. B. bei *B. coli* so groß, daß er fast den ganzen Bakterienleib erfüllt; es wurde hierdurch ein ähnlicher Bau des Bakterienkörpers angezeigt, wie er von Bütschli angenommen wird. Der schwache Punkt der Arbeit liegt 35 aber, wie in so vielen ähnlichen darin, daß die ganze Theorie auf einem Färbungsphänomen aufgebaut ist und daß zum Vergleich die doch wesentlich anders organisierten Zellen von Amöben und Malariaplasmodien herbeigezogen werden.

Nakanishi (1) läßt auf Objektträgern eine dünne Methylenblau- 40 lösung eintrocknen und bringt ein Tröpfchen mit lebenden Bakterien darauf. Er beobachtet dann, daß sich die Membran deutlich blau färbt, das Plasma schwach bläulich und eine zentrale Partie, die er als Kern deutet, intensiver blau. Auch er zieht als Analogon Malariaplasmodien heran. Dabei nimmt er an, daß sich die lebenden Bakterienzellen ebenso 45 verhalten, wie die auch durch geringe Mengen Methylenblau sofort getöteten Malariaparasiten. Die Kerne lebender Zellen färben sich aber mit Methylenblau überhaupt nicht, sondern erst beim Absterben. Vielmehr ist es der Inhalt der zentralen Vakuole, welcher sich mit Methylenblau ziemlich intensiv färbt, wie dies für andere Pflanzenzellen 50 bereits von Pfeffer (1) in absolut unzweideutiger Weise nachgewiesen worden ist. Die Zellkerne Nakanishi's werden demnach der Hauptsache nach als Vakuolen zu deuten sein. Auch die Form des Zellkernes, die

zwar meist rundlich oder oval, „unter Umständen aber die Form einer Sanduhr, Hantel, eines Stäbchens oder einer Perlschnur“ annehmen kann, weist darauf hin.

WAGNER's (1) Behandlung der Bakterien ist eine so außerordentlich eingreifende, daß es eigentlich ein Wunder wäre, wenn nicht Kunstprodukte in dem zarten Zelleib entstünden. Daß es sich bei seinen Resultaten um weitgehende Veränderungen im Plasma handelt, geht schon aus den Abbildungen mit unzweifelhafter Sicherheit hervor. Die längeren Stäbchen von Coli- und Typhusbazillen erscheinen als Scheiden, in denen ovoide Glieder aneinandergelagert sind, die in ihrem Zentrum ein dunkleres Gebilde erkennen lassen. Statt diese Bildungen sofort als Kunstprodukte zu erkennen, deutet sie WAGNER so, daß er tatsächlich die ovoiden Gebilde als die eigentlichen in ihrem Zentrum einen Kern tragenden Zellen auffaßt, die streptokokkenartig aneinandergereiht und von einer gemeinsamen Membran umgeben sind.

Ganz kürzlich ist nun eine Arbeit von RAÝMAN und KRUIS (1) erschienen, die nach Analogie von Kernen der Hefezellen auch solche von Bakterien glauben nachweisen zu können. Die sehr guten photographischen Abbildungen sind allerdings sehr verführerisch, sie lassen in jeder Zelle einen zentralen dunklen rundlichen Kern erkennen, welcher noch besser als auf den Lichtdrucktafeln auf einer mir zur Einsicht zugänglich gemachten Photographie auf Bromsilbergelatinepapier zum Ausdruck kommen. Die Verf. gehen bei ihren Untersuchungen von Hefezellen aus und verwenden zur Sichtbarmachung des von ihnen als Zellkern erklärten Gebildes eine Färbung mit Alizarin *P. S.* von BAYER & Co. in Elberfeld, später noch andere komplizierte Färbemethoden. Sie finden dann in den Zellen die allerdings auffallend an Zellkerne erinnernden Gebilde bei einer Anzahl großzelliger Bakterien, so auch bei dem von mir wiederholt untersuchten *Bacillus oxalaticus*. So bestechend nun aber auch ihre Abbildungen und so interessant ihre Untersuchungsergebnisse auch sind, kann ich doch einen zwingenden Grund, die von ihnen gesehenen Gebilde als Zellkerne anzuerkennen, nicht in ihrer Arbeit finden; im Gegenteil, es spricht manches dagegen. So große und so regelmäßig in der Mitte der Zelle auftretende „Zellkerne“ hätten auch bei lebenden Zellen der Beobachtung nicht entgehen dürfen; davon erwähnen die Verfasser aber nicht allein nichts, sondern ich kann auch für den von ihnen ebenfalls untersuchten *Bacillus oxalaticus* mit Bestimmtheit sagen, daß solche Körper in lebenden Zellen tatsächlich nicht zu sehen sind. Ich kann deshalb nicht anders als diese Gebilde für Produkte halten, die erst infolge ihrer Färbungsmethoden entstanden sind, worin mich noch ihre Angaben bestärken, daß in alten oder unter ungünstigeren Bedingungen, z. B. auf Kartoffeln, sich entwickelnden Kulturen die Zellkerne nur selten zu sehen sind und daß sie „möglicherweise in sehr vielen Fällen überhaupt gänzlich fehlen“. Das ist ein sehr ungünstiges Zeugnis, welches die Verfasser der Zellkernnatur der von ihnen gesehenen Gebilde ausstellen. Auch daß sie mitunter 2 Körnchen nebeneinander sehen, die wie eben geteilte Tochterkerne gelagert sind, ändert an meinem Urteil über die Kernnatur der fraglichen Gebilde nichts. Immerhin wäre eine Nachuntersuchung auch an denselben Objekten sehr wünschenswert, weil die Möglichkeit, daß ein bisher übersehener Inhaltskörper tatsächlich an der von den Verfassern abgebildeten Stelle vorhanden ist, selbstverständlich nicht ohne weiteres als unmöglich bezeichnet werden kann.

Der **plasmatische Wandbelag** ist in vielen Fällen, abgesehen von den später zu besprechenden größeren Körnchen, völlig homogen und bleibt dies auch, wiewohl nicht so häufig, während der ganzen Entwicklung einer Bakterienkultur, resp. einer Generation von Spore zu Spore. In anderen Fällen ist er zwar anfangs homogen, wird aber im 5 Laufe der Entwicklung und namentlich einige Zeit vor Beginn der Sporenbildung trüb, feinkörnig, Erscheinungen, die unter Umständen für manche Arten ziemlich konstant zu sein scheinen und auch durch verschiedene Ernährungsverhältnisse nicht wesentlich beeinflußt werden. MILLON'sches Reagens ruft ausgesprochene Eiweißreaktion hervor, wenn 10 dieselbe auch, entsprechend der Kleinheit der Objekte nur als verhältnismäßig zarte Färbung zum Ausdruck kommt.

Daß sich der protoplasmatische Wandbelag bei Einwirkung wasserentziehender Mittel von der Wand zurückzieht, wurde schon erwähnt, doch lassen sich nicht alle Bakterien plasmolysieren. Manche Arten 15 widerstehen nach FISCHER's (3) neueren Untersuchungen der Plasmolyse, so der Milzbrandbazillus, auch der Heubazillus. Die von HINZE (1, 2) genauer untersuchten *Beggiatoa mirabilis* und *Thiophysa volutans* lassen sich ebenfalls nicht plasmolysieren, sondern schrumpfen bei Anwendung wasserentziehender Mittel im ganzen zusammen. 20

Trocknet die Wasserschicht in einem Präparat allmählich ein, so kann das Deckgläschen unter Umständen einen derartigen Druck auf die Zellen ausüben, daß das Plasma in Form von kleinen Tröpfchen durch die Geißelaustrittsstellen resp. durch infolge des Druckes entstandene Risse hervortritt. Fügt man Wasser hinzu, so können diese 25 Tröpfchen sich von den Zellen ablösen und eine Zeitlang als kleine Körnchen neben ihnen sichtbar bleiben, ein Vorgang, der einige Male beobachtet, aber nicht richtig gedeutet wurde. FISCHER (3) hat diese Erscheinung ursprünglich zu dem von ihm als Plasmoptyse bezeichneten Vorgang gerechnet, später (4) aber richtig erklärt. 30

Als **Plasmoptyse** faßt FISCHER (4) eigentümliche Involutionserscheinungen auf, die namentlich an Schraubenbakterien, doch auch an anderen vorkommen und als Ausdruck der Einwirkung ungünstiger Lebensbedingungen anzusehen sind. Der Zellinhalt tritt nämlich an dem geißeltragendem Ende in Form einer kugeligen Masse hervor, so 35 daß sie schließlich den Eindruck machen, als wenn die Cholerakultur mit kugeligen Bakterien verunreinigt worden sei. Solche kugelige Formen hat bereits DOWDESWELL beobachtet (1); sie sind aber von ihm als Ausdruck des Pleomorphismus des Choleravibrio gedeutet worden. Die aus den Cholerazellen austretenden Plasmakugeln umgeben sich 40 nach FISCHER mit einer Membran und bleiben noch eine Zeitlang am Leben, schließlich zerfallen sie auch, man sieht aber an geeigneten Präparaten noch die der Kugel anhaftende ursprüngliche Zellmembran.

FISCHER faßt den Vorgang der Plasmoptyse so auf, daß „Mangel an geeigneten Nährstoffen, verbunden mit gewissen Störungen des Proto- 45 plasmas, das normale Wachstum der Vibrionen nicht mehr gestatten, während die den Turgor der Zelle hervorrufenden Stoffe des Zellsaftes noch von dem für sie impermeabel gebliebenen Protoplasma in der Zelle zurückgehalten werden. Damit ist aber die mechanische Wachstumsbedingung noch gegeben und treibt nun das Protoplasma gewaltsam 50 hervor". Es würde dies also eine Art von Involutionsform sein, die mit gewissen osmotischen Eigenschaften des Protoplasmas zusammenhinge.

Das Lichtbrechungsvermögen des plasmatischen Wandbelages ist

etwas größer als das des Wassers, nach FISCHER (3) aber schwächer als das der Membran, wenigstens beim Milzbrandbazillus, so daß er z. B. in reiner Karbolsäure (vom Brechungsexp. 1,55) verschwindet, während die Membran sichtbar bleibt.

5 Die chemischen Verhältnisse des Zellinhaltes, die eine eingehendere Schilderung im dritten Abschnitte dieses Bandes finden, mögen hier nur insofern berührt werden, als dies für das Verständnis des morphologischen Baues der Zelle unbedingt erforderlich ist. Das Cytoplasma, worunter im vorliegenden Falle der gesamte plasmatische Inhalt mit Ausschluß 10 der als deutliche Körnchen differenzierten Gebilde verstanden werden mag, scheint danach bei den Bakterien ziemlich ähnlich organisiert zu sein; chemisch verschiedene Substanzen sind in Form von Körnern oder Tröpfchen abgelagert, denn auch die mit Jod sich braunrot resp. rot und blau färbenden Substanzen, die man bisher als in dem Plasma selbst 15 gelöst betrachtete, sind nach MEYER's (3) Untersuchungen in Form von dicht zu Haufen gedrängten Körnchen an bestimmten Stellen des Plasmas abgelagert.

§ 16. Die körnigen Bestandteile des Zellinhaltes.

Bei der Kleinheit der Bakterienzellen waren zunächst nur bei den 20 größten Formen, insbesondere bei Spirillen und einigen großen Schwefelbakterien, geformte Inhaltsbestandteile der Zelle beobachtet worden, die EHRENBERG (1) als Magenbläschen und ähnliche Organe gemäß seiner Auffassung von der tierischen Natur der Bakterien gedeutet hatte. COHN (2) findet, daß in dem Plasma der Bakterienzelle in der 25 Regel glänzende, ölartige Körnchen oder Kügelchen eingebettet sind, die mitunter allerdings erst beim Absterben sichtbar werden; in den feineren Fäden scheine der Inhalt oft homogen zu sein. Bei dem Organismus, der blauen Milch (*Bacillus s. Pseudomonas syncyanea*) fand HUEPPE (1) regelmäßig Körnchen, welche sich mit Methylenblau intensiver färbten 30 als die Stäbchen. Dann wurden von zahlreichen Forschern besonders von BABES (1) und ERNST (1) Körnchen beobachtet und eingehender untersucht.

ERNST, der sie zuerst einer genaueren Untersuchung unterzog, nennt sie „sporogene Körner“ und glaubt, daß sie zwar ein anderes 35 Element als die Sporen seien, aber letztere doch aus ihnen sich bilden könnten. Daß sie von den Sporen verschieden sind, konnte er daraus entnehmen, daß sie sich im Gegensatz zu diesen mit Hämatoxylin und Kernschwarz aber nicht immer nach der NEISSER'schen Sporenfärbungsmethode färben. Auch bei Oscillarien konnte er die Kerne finden. 40 Wenn nun ERNST diese Körnchen einerseits zur Sporenbildung in Beziehung bringt, so sieht er sie andrerseits als Zellkerne an. Dazu war er jedoch nach dem Ausfall einiger von ihm selbst angestellter Reaktionen nicht berechtigt, denn er konnte sie durch kochendes Wasser zum Verschwinden bringen; in einer Lösung von 0,5 Proz. Pepsin und 45 0,2 Proz. Salzsäure wurden sie gelöst. Daß es sich nicht um Fetttröpfchen handelte, bewies ihre Unlöslichkeit in kochendem Aether.

Später untersuchte BÜTSCHLI (1) die Körnchen genauer. Sie liegen bei den Bakterien in dem von ihm als Zellkern gedeuteten Zentralkörper und färben sich mit Hämatoxylin rotviolett, weshalb er sie „rote 50 Körnchen“ nennt. Sie sollen mit den ERNST'schen sporogenen Körnchen

identisch sein und den Chromatinkörnchen höher organisierter Zellen entsprechen. Bei Diatomeen, Flagellaten, einem Pilzmycel fanden sie sich nicht nur in den Kernen, sondern auch im Plasma. Auch WAHRLICH (1) sah die Körnchen und konnte keinen Unterschied zwischen ihnen und dem Chromatin bei höheren Organismen bemerken. 5

SJÖBRING (1) findet zweierlei Arten von Körnchen in den Bakterienzellen, die sich durch ihr Verhalten zu Farbstoffen und durch ihre Lage in der Zelle unterscheiden. Die einen färben sich besonders gut mit Karbol-Magentarot und liegen an der Peripherie dicht unter der Membran, die anderen färben sich besser mit Karbol-Methylenblau und liegen meist 10 zu mehreren in einer glänzenden aus dem Plasma sich differenzierenden, zentralen Masse. Dieser Körper wird von SJÖBRING für den Zellkern gehalten und in einer Anzahl Figuren werden sogar Bilder gebracht, die an mitotische Kernteilungen erinnern. Allerdings sind diese Beobachtungen SJÖBRING's unter sich ohne Zusammenhang und an gefärbten 15 toten Bakterien gemacht, die vorher recht eingreifende Behandlungen zu erfahren hatten. Da ferner seine Beobachtungen niemals später bestätigt werden konnten, so darf man wohl jetzt annehmen, daß durch die Präparation entstandene Kunstprodukte ihn zu seinen Schlüssen geführt haben. 20

Wir müssen jetzt noch eine Reihe von Arbeiten über die Körnchen im Bakterieninhalt betrachten, welche zwar nicht immer zu einer Klärung der Verhältnisse beigetragen haben, aber teils zur Aufwerfung neuer Fragen führten, teils die Ursache für die Entstehung anderer wichtigerer Arbeiten waren. MARX und WOITHE (1) finden, daß die Zahl der BABES- 25 ERNST'schen Körnchen in jedem Stäbchen 2, in jedem Kokkus 1 beträgt (S. 34), andrerseits ist je nach den „Generationen" die Zahl der körnchenführenden Stäbchen eine sehr verschiedene bei derselben Art (S. 35); d. h. also, daß die Körnchen keinen regelmäßigen Bestandteil der Zellen bilden. Wenn daher die Verf. den Körnchen zwar nicht die 30 Rolle von Zellkernen, aber die von Centrosomen zuweisen wollen, so ist das angesichts ihres durchaus unbeständigen Vorkommens eine nicht zu rechtfertigende Behauptung. Nach ihrer Ansicht kommen nur vor der Zellteilung mehr als 2 solcher Körnchen in einer Stäbchenzelle vor und zwar deshalb, weil jedes der an den Polen liegenden Körnchen sich teilt 35 und diese dann nach der Gegend der Zellteilungsebene wandern. Diese Resultate sind jedoch nicht aus einer fortlaufenden Untersuchung der Entwicklung gewonnen, sondern aus gefärbten Präparaten konstruiert, können also in keiner Hinsicht als Beweismaterial gelten. Die Verf. betrachten ferner die BABES-ERNST'schen Körnchen als das „Keimplasma" 40 WEISMANN's und die diese Körperchen führenden Bakterienindividuen als Träger und Erhalter der Art.

Auch MÜHLSCHLEGEL (1), der drei aus Getreide stammende, sporenbildende Bazillen auf ihre Körnchen untersuchte, fand, daß die Körnchen um so frühzeitiger in jungen Kulturen auftreten, je günstiger die Wachs- 45 tumsbedingungen sind. Aus diesem Grunde dürften die Körnchen nicht als Degenerationserscheinungen aufgefaßt werden. Sie stehen nach dem Verf. in gewisser Beziehung zur Sporenbildung, seien aber von den Körnchen pathogener Arten verschieden.

Die von MARX und WOITHE vertretene Anschauung, die an und für 50 sich wenig Wahrscheinlichkeit für sich hat, wurde sehr bald von verschiedenen Seiten widerlegt. Insbesondere wurde von KROMPECHER (1) in einwandsfreier Weise der Nachweis geliefert, daß Auftreten und

Menge der Körnchen durchaus nicht im Zusammenhange mit dem Virulenzgrade der Bakterien stehen. Zu dem gleichen Resultat kommt Schumburg (1). Podwyssozki (1) dagegen fand im Gegensatz zu Marx und Woithe, daß das Auftreten von Körnchen bei Cholerabakterien als 5 ein Zeichen von Degeneration aufzufassen sei, eine Annahme, für die er jedoch nach unserem gegenwärtigen Wissen von den Körnchen keinerlei ausreichende Begründung bringen kann.

Ficker (1) kommt bei seinen Untersuchungen über die Körnchen der Diphtheriebazillen zu dem Schluß, daß diese Körnchen keine Zell- 10 kerne seien, sondern in ihrer Beschaffenheit mehr den Volutanskugeln sich nähern. Schon daß es körnerreiche und körnchenlose Diphtheriestämme gibt, spricht nach seiner Meinung gegen die Kernnatur, während die Tatsache, daß auf gewissen Nährböden gut, auf anderen schlecht oder gar nicht Körnchen gebildet werden, mehr auf ihre Natur als Re- 15 servestoffe hindeute; jedenfalls ließen sich aber durch manche Färbemethoden ganz verschiedene Dinge in gleicher Weise färben.

Feinberg (1) wendet zum Studium des Zellinhaltes die früher schon von Zettnow (3) zu gleichem Zwecke verwendete Romanowski'sche Färbung an; er findet dabei in einzelnen Stäbchen zwei bis mehrere 20 different gefärbte, von ihm als Zellkerne angesehene Körper; doch scheinen seine Angaben sehr subjektiver Natur zu sein, da Zettnow (4) an den Feinberg'schen Präparaten keine differenten Färbungen erkennen konnte. Die Körper sind allerdings (vgl. S. 61) wohl nicht mehr unter die eigentlichen Körnchen zu rechnen.

25 Ernst (2) kommt bei seiner erneuten Untersuchung der Körnchen in den Bakterien zu keinem positiven Resultat. Er weist darauf hin, daß nach Overton's Theorie der vitalen Färbung nur solche Stoffe sich eignen, die in Fetten und Oelen löslich sind, wie Neutralrot und Methylenblau. Es würde deshalb, wenn sich im Innern der Bakterienzelle 30 Granula der vitalen Färbung zugänglich erwiesen, das Wahrscheinlichste sein, daß sie aus kleinen Vakuolen mit fetten oder öligen Stoffen oder Körnchen von Lecithin oder Cholesterin bestünden; sie würden also als Reservestoffe dienen und damit käme ihre Kernnatur nicht mehr in Frage.

35 Der gleiche Grund, die Vitalfärbung der Körnchen durch Methylenblau, bestimmen Massart (1) ihre Kernnatur zu leugnen, weil er mit Recht sagt, daß sich lebende Kerne nicht mit Mythylenblau färben, wohl aber andere, auch in anderen Zellen gefundene Körnchen.

Růžička (1) ist ebenfalls der Ansicht, daß bisher in der Bakterien- 40 zelle keine Kerne aufgefunden wurden und zwar einmal wegen des unregelmäßigen Vorkommens und deren verschiedener Zahl, dann aber auch wegen der Beobachtungen, die er an einem besonders großen Kokkus gemacht hat. In diesen Kokken kommt meist ein der Membran anliegendes Körnchen vor, mitunter aber auch 2 oder 3 verschieden an- 45 geordnete Körnchen, oder 1 zentral gelegenes. In letzterem Falle wäre allerdings die Frage meiner Meinung nach noch zu entscheiden, ob das Körnchen wirklich im Zentrum der Zelle oder etwa nur in der Mitte des unter dem Mikroskop erscheinenden Zellbildes, aber doch an der Membran gelegen sei. Von diesen Körnchen aus fand Růžička häufig 50 Fortsätze ausgehend, die bei kontinuierlicher Beobachtung am lebenden Kokkus sich immer weiter erstrecken und schließlich sich zu einem kontinuierlichen Ring um den Kokkus verbinden, während das Körnchen in gleichem Verhältnis an Volumen abnimmt und schließlich ganz ver-

schwindet. In der Ebene dieses Ringes entsteht später die Teilungswand. Dies ist eine Beobachtung, die freilich mit der Kernnatur des Körnchens nicht in Einklang zu bringen ist. Ebensowenig kann Růžička die Ansicht Bütschli's teilen, daß ein als Zellkern zu deutender Zentralkörper die Hauptmasse des Zellinhaltes ausmache. 5

Zu einer etwas verwickelten Vorstellung von den Körnchen des Bakterieninhaltes kommt Fedorowitsch (1). Indem er zunächst die Ergebnisse Feinberg's (1) richtig stellt und nachweist, daß die gleiche Methode bei etwas verschiedener Anwendung ganz ungleiche Resultate liefert, je nach dem Grade der Entfärbung, verwendet er selbst eine 10 Färbungsmethode, die bei verschiedenen Bakterienarten auch ganz verschieden gehandhabt werden muß, um gute Resultate zu liefern. Danach findet er in Zellen ganz junger Kulturen im peripheren Plasma einige Körnchen, die sich nach seiner Methode violett färben, während das übrige Plasma rosenfarbig ist. Er nennt diese, auch im lebenden 15 Bakterienkörper lichtbrechend erscheinende Gebilde „Körnchen erster Reihe“. Nach 36—48 Stunden beginnen 1 oder 2 Körnchen, die in den „Winkeln“ oder an den Enden gelegen sind, sich stärker zu färben und schwerer zu entfärben, ebenso scheinen sie größer zu sein als die vorigen. Es sind dies die „Körnchen 2. Reihe“. Nach $2^1/_2$—4 Tagen 20 befindet sich in jedem Stäbchen nur 1 Körnchen, „das die äußeren Konturen einer Spore hat“. Das sind die „Körnchen 3. Reihe“. Die Körnchen 2. Reihe sollen den Ernst'schen Körnchen (sporogene Körner) entsprechen und nur auftreten, wenn die Kultur schon zu wachsen aufhört. Die Körnchen 3. Reihe entwickeln sich bei den sporenbildenden Arten 25 zu Sporen, bei den nichtsporenbildenden, zu Anfängen solcher, „Protosporen“, die als „erstes Stadium in der genetischen Entwicklung der Sporen erscheinen.“ Bezüglich der Kerne weist auch Fedorowitsch die Anschauung Bütschli's zurück, ist überhaupt der Meinung, daß ein Zellkern, welcher demjenigen höherer Zellen ähnlich ist, in der Bakterien- 30 zelle nicht gefunden werden kann.

Eine noch andere Anschauung von der Natur der Körnchen vertritt Rowland (1). Er ist auch der einzige, der in der lebenden Zelle Teilungen der Körnchen beobachtet haben will. Obgleich er einen bestimmten Standpunkt nicht einnimmt, scheint er doch zu der Ansicht 35 zu neigen, daß wenigstens ein Teil der Körnchen als Exkrete zu bezeichnen seien. Ein anderer Teil der Körnchen könnte als Kerne gedeutet werden, da ihnen bei der Teilung der Zelle eine gewisse Rolle zuzukommen scheine. Indessen ist eben diese Rolle bei Rowland durchaus nicht so beschrieben, daß ein Zusammenhang mit der Zell- 40 teilung ersichtlich wäre. Zu der Anschauung über die Exkretnatur der Körnchen kommt Rowland durch die wiederholt von ihm beobachtete Erscheinung, daß Körnchen aus der Zelle ausgestoßen werden. Es handelt sich hierbei jedenfalls um ähnliche Vorgänge der Plasmoptyse, wie sie Fischer (3) beschrieben hat, vielleicht auch durch Versuchs- 45 fehler ähnlicher Art hervorgerufen, wie Fischer (4) angibt.

Im allgemeinen erklärten sich die Forscher, die sich mit den Körnchen beschäftigt hatten, entweder für oder gegen ihre Kernnatur, ohne zwischen den Körnchen einer Zelle Unterschiede zu machen. Erst durch die umfassenden Arbeiten Arthur Meyer's wurde unzweifelhaft fest- 50 gestellt, daß selbst in ein und derselben Bakterienzelle Körnchen ganz verschiedener Natur nebeneinander vorkommen können. In seinen Arbeiten über *Astasia asterospora* und *Bacillus tumescens* (1, 2) weist er

einer bestimmten Gattung dieser Körnchen Zellkernnatur zu. Jede Zelle enthält 1—2 solcher Kerne, die sich gegenüber Färbungen mit Jod und Rutheniumrot ganz wie Kerne von Hyphomyceten verhalten und auch bezüglich der Größe gegenüber der Bakterienzelle in richtigem Verhältnisse stehen. Besonders aber die Beobachtung, daß eines dieser Körnchen bei der Sporenbildung in die junge Spore einwandert, ist für ihn ein sehr ins Gewicht fallender Grund, dieses Körnchen als Kern zu betrachten. In einer späteren Arbeit hat er (3) auch langgestreckte und eingeschnürte Körnchen abgebildet, die als anscheinende Teilungsstadien gedeutet werden.

Neben diesen als Kerne gedeuteten Körnchen weist MEYER (3) nach, daß ein großer Teil der Körnchen aus Fettkügelchen besteht, während ein anderer aus einem von ihm (5) Volutin benannten Reservestoff gebildet wird. Fettröpfchen sind allgemein verbreitet und schon HUEPPE (1, S. 149) weist darauf hin, daß Fettröpfchen in Bakterien bei einfacher Färbung unter Umständen Sporen vortäuschen können. Daß es sich tatsächlich um Fett handelt, wurde von MEYER (3) für *Bacillus tumescens* bewiesen, durch seine Sudan- und Gelbfärbung auch für andere Arten außer Frage gestellt. Das Volutin wurde von ihm zuerst in den großen Zellen von *Spirillum volutans* gefunden (daher der Name), später auch in anderen Bakterien, so in den Zellen von *Bacillus alvei*, im Diphtheriebazillus usw.

Daß sich die als „Kerne“ von MEYER angesehenen Körnchen von den beiden zuletzt besprochenen Gattungen von Körnchen unterscheiden, ist nach dem Gesagten zweifellos, und wir hätten somit mindestens drei verschiedene Kategorien von Körnchen. Dazu kommen nun aber noch die ebenfalls verschiedenen, später zu besprechenden Schwefelkörnchen, Amylinkörner, außerdem Glykogen und Granulose. Ich glaube jedoch, daß damit noch nicht die Zahl der verschiedenen körnchenartigen Bildungen erschöpft ist.

Gegen die Anschauung MEYER's hinsichtlich des Vorhandenseins von echten Zellkernen in der Bakterienzelle schien mir (4) mancherlei zu sprechen, so besonders der Umstand, daß Teilungsbeobachtungen nicht vorliegen und daß die Zahl der Kerne sich in den Zellen vermehrt, ohne daß man Teilungserscheinungen beobachten konnte. Bei wiederholten Untersuchungen konnte ich in jungen Zellen keine Körnchen wahrnehmen, wohl aber beobachten, daß dieselben aus sehr kleinen Granulis des Plasmas durch allmähliches Wachstum entstanden. Daß ich einmal ein solches Körnchen übersah, kann bei den zahlreichen Untersuchungen kaum wundernehmen, auch MEYER (3) hat später, bei anderen Methoden, mehr „Kerne“ in der Zelle gefunden, als anfangs, nämlich 1—6. Ich kann aus denselben Gründen auch heute noch nicht die Zellkernfrage bei den Bakterien als gelöst betrachten. Die Möglichkeit, daß die von MEYER als Kerne angesehenen Körnchen wirklich Zellkerne seien, gebe ich ohne weiteres zu, wenn auch nicht Zellkerne, die denen höher organisierter Zellen entsprechen; nur daß der Beweis dafür erbracht sei, muß ich auch heute noch verneinen. Im übrigen habe ich schon 1897 meine Meinung über gewisse körnige Inhaltsbestandteile, die mit dem Chromatin wegen einiger mikrochemischer Reaktionen gewisse Aehnlichkeit haben, dahin zusammengefaßt: „ich möchte sie als die ersten Anfänge einer Zellkernbildung betrachten (3, S. 90).“

Auch ALFRED FISCHER (4) ist noch neuerdings der Ansicht, daß der Nachweis echter Zellkerne in den Bakterien noch nicht gelungen sei.

Sehr beweiskräftig ist seine Angabe, daß Methylgrün, sonst Kerne von Tier- und Pflanzenzellen sehr intensiv färbend, die fraglichen Körnchen nicht stärker färbt als das Plasma.

Vejdovský's (1) Angaben über den Bau der Bakterien, insbesondere über den Kern derselben, stimmen im allgemeinen mit denen A. Meyer's 5 überein, doch sind seine Untersuchungen ausschließlich an Material ausgeführt, welches tot in seine Hände gelangte. Außerdem sind seine Angaben und Zeichnungen der „Keime" seiner Bakterienart so eigenartig, daß ich den Organismus überhaupt nicht für ein Bakterium halten möchte.

Zwei interessante Arbeiten Schaudinn's bringen trotz ihrer äußerst 10 interessansen Einzelheiten ebenfalls kein Licht in die Frage. In der ersten (1), in welcher er den *Bacillus Bütschlii* behandelt, glaubt er annehmen zu dürfen, daß die bei diesem Organismus auftretenden Körnchen Kernsubstanz seien, welche in den vegetativen Zuständen durch das ganze Plasma verteilt sei. Vor der Sporenbildung dagegen sammle 15 sich die Kernsubstanz in Form eines aus dicht gedrängten Körnchen bestehenden, von Pol zu Pol ziehenden Bandes, schließlich sammeln sich die Körnchen an beiden Polen und hier bildet sich die als „Kern" aufgefaßte junge Spore. In der zweiten Arbeit (2) nimmt er an, daß bei seinem *Bacillus sporonema* die Kernsubstanz ebenfalls diffus durch das 20 Plasma verteilt sei, aber nicht mehr sich vor der Sporenbildung zu einem morphologisch als Zellkern zu deutenden Gebilde vereinige.

Abgesehen von diesen bisher behandelten Körnchen, die teilweise von manchen Forschern als Kerne gedeutet wurden, kommen nun bei manchen Bakterien noch körnige Einschlüsse hinzu, die in ihrem chemi- 25 schen Verhalten zu einer solchen Deutung niemals Veranlassung gegeben haben.

In erster Linie sind hier die Schwefeleinschlüsse zu nennen, die zuerst von Kramer (1) richtig als Schwefel gedeutet wurden und deren chemische Natur noch mehrfach, insbesondere von Winogradsky (1) 30 und Bütschli (1) festgestellt worden ist. Die Körnchen zeigen sich in allen normal vegetierenden Zellen der Schwefelbakterien als stark lichtbrechende Kügelchen. Sie sind in sehr wechselnder Zahl in den Zellen enthalten, je nachdem die Bakterien den Schwefelwasserstoff in größerem oder geringerem Maße verarbeiten. Tritt Mangel an Schwefelwasserstoff 35 ein, so verschwinden die Schwefelkörnchen, es ist also ein Bestandteil der Zelle, der von Ernährungsbedingungen in weitem Maße abhängig ist. Nach Winogradsky befindet sich der Schwefel in weichem oder halbflüssigem Zustande und ist niemals in Form von Kristallen ausgeschieden. Nähere Angaben darüber finden sich in dem von den 40 Schwefelbakterien handelnden Kapitel des 2. Abschnittes des 3. Bandes.

Ferner konnte Meyer (3) feststellen, daß gewisse glykogen- oder stärkeähnlichen Kohlenhydrate, die von manchen Bakterienarten vor der Sporenbildung gebildet und bei der Sporenbildung selbst verbraucht werden, auch nicht, wie bisher angenommen, im Plasma diffus verteilt 45 sind, sondern ebenfalls in Form von Körnchen abgelagert werden. Nur sind diese Körnchen so dicht gelagert, daß sie meist wie eine homogene Masse erscheinen. Bei Zusatz von sehr geringen Mengen Jodjodkalilösung treten die Körnchen unter Blaufärbung deutlicher hervor. Bei mehr Jodkalizusatz färben sich die Körnchen des von ihm untersuchten 50 *Granulobacter* intensiv braunrot.

Schließlich fand Hinze (1) bei *Beggiatoa mirabilis* ein Kohlenhydrat, Amylin von ihm genannt, welches in Form von kleinen Körnchen zer-

streut im Plasma abgelagert ist. Im Gegensatz zu dem von MEYER bei einem *Granulobacter* gefundenen, färbt es sich erst bei reichlichem Jodjodkalizusatz blau.

In den meisten Fällen scheinen also die körnigen Elemente der 5 Bakterienzelle Reservestoffe zu sein und aus Fetten und Kohlehydraten zu bestehen. Daß daneben auch eiweißartige Substanzen in Körnchenform vorkommen, dürfte ebenfalls als sicher angenommen werden. Ob diesen letzteren aber oder einem Teil derselben Zellkernnatur zugesprochen werden muß, ist eine zurzeit noch offene Streitfrage.

Literatur

zum Kapitel Bau der Bakterienzelle.

***Amann,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. XIII. S. 775. ***Babes,** V., (1) Z. f. Hyg., 1895, Bd. XX, S. 412. ***Binachi,** R., (1) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. IV, S. 897. ***Boni,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., Bd. 28, S. 705. — (2) Münch. med. Wochenschr., 1900, Nr. 37. ***Bütschli,** (1) Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig 1890. — (2) Weitere Ausführungen über den Bau der Bakterien und Cyanophyceen. Leipzig 1896. — (3) Archiv für Protistenkunde, 1902, Bd. I, S. 41. ***Cohn,** F., (1) Nova Act. Acad. Caes. Leop. Carol. Nat. Cur. Vol. XXIV, P. I. — (2) Untersuchungen über Bakterien I. Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1872, Bd. I, H. 2. ***Dowdeswell,** G. F., (1) Ann. de microgr. II, 1890, Nr. 12. ***Ehrenberg,** (1) Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Leipzig 1838. ***Ernst,** P., (1) Z. f. Hyg., 1888, Bd. V. — (2) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. VIII, Nr. 1. ***Famintzin,** A., (1) Mélanges biolog., T. XIII, S. 2. Petersburg 1891. ***Fedorowitsch,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. VIII, S. 481. ***Feinberg,** (1) Centralbl. f. Bakt., Bd. XXVII, S. 417. ***Ficker,** M., (1) Arch. f. Hyg., Bd. XLVI, S. 171. ***Fischer,** Alfred, (1) Ber. d. königl. Ges. d. Wiss. Math.-phys. Kl. 2. März 1891. Leipzig. — (2) Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897. — (3) Z. f. Hyg., Bd. XXXV, S. 1. — (4) Vorlesungen über Bakterien, 1903, II. Aufl. ***Frenzel,** (1) Z. f. Hyg., 1891, Bd. XI. ***Gotschlich,** E., (1) Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Organismen in Kolle und Wassermann's Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 1902, Bd. I, S. 29. ***Grimme,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., Bd. XXXII, Orig. S. 1. ***Hinze,** G., (1) Wissensch. Meeresunters. Kiel. Neue Folge, 1902, Bd. VI. — (2) Ber. d. deutsch. bot. Ges., 1903, Bd. XXI, H. 6. ***Hueppe,** (1) Methoden der Bakterienforschung, 1891, V. Aufl. ***Johne,** (1) Deutsche tierärztl. Wochenschr., 1894, Bd. II, S. 73 u. 289. ***Kern,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. XXII, S. 166. ***Klebs,** (1) Allgemeine Pathologie, 1887, Bd. I, S. 75. ***Koch** und **Hosaeus,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. XVI, S. 225. ***Koch,** R., (1) in Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 1877, Bd. II. ***Kramer,** (1) in Müller, Chemisch-physikalische Beschreibung der Thermen von Baden in der Schweiz. Baden 1870. ***Krompecher,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1901, Bd. 30, Nr. 10/11. ***Marx** und **Woithe,** (1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. XXVIII, S. 1. ***Massart,** J., (1) Rec. de l'Inst. Botan., Université de Bruxelles, 1902, T. V. ***Meyer,** Arthur, (1) Sitzungber. d. Ges. z. Beförd. d. ges. Naturw. zu Marburg, Juli 1897. — (2) Flora, 1897, Bd. 84, S. 185. — (3) Flora, 1899, Bd. 86, S. 428. — (4) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 29, S. 809. — (5) Practicum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903. ***Migula,** W., (1) Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochschule zu Karlsruhe, 1894, Bd. I, H. 1. — (2) Deutsche tierärztliche Wochenschr. — (3) System der Bakterien, Jena 1897, Bd. I. — (4) Flora, 1890, Bd. 85, H. 2. ***Mitrophanow,** (1) Internat. Monatsschr. f. Anat. und Physiol., 1894, Bd. X. ***Mühlschlegel,** (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1899, Bd. XV. ***Nakanishi,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1901, I. Abt., Bd. 30. ***Pfeffer,** (1) Unters. a. d. bot. Inst. zu Tübingen, 1886, Bd. II, H. 2, S. 179. ***Podwyssozki,** (1) Centralbl. f. allg. Pathol., 1893, Nr. 17. ***Rayman** und **Kruis,** (1) Bull. intern. de l'Acad. d. sc. de Bohême 1903. ***Rowland,** S., (1) Observations upon the structure of Bacteria. ***Růžička,** V., (1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 23, S. 305. — (2) Arch. f. Hyg., Bd. XLVI, S. 337. ***Schaudinn,** F., (1) Arch. f. Protistenkunde, 1902, I, S. 306. — (2) Arch. f. Protistenkunde, 1903, II, S. 421. ***Schottelius,** M., (1) Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 4, Nr. 23. ***Schumburg,** (1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 31, Orig., S. 694. ***Serafini,** (1) Laborat. anat.-patol. degli Incurabili in Napoli. Nach **Binaghi** (1) zit. ***Sjöbring,** *Nils, (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. XI, S. 65. ***Thaxter,** R., (1) Botanical Gazette, Vol. XVII, S. 389. ***Trambusti,** A. und **Galeotti,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. XI, S. 717. ***van Tieghem,** (1) Ann. des sc. nat., 1878, Sér. VI, T. VII, S. 180.

***Vejdovský,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. VI, S. 577. ***Wager,** H., (1) Annal. of Botany, 1891, Vol. V, S. 513. ***Wagner,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 23, S. 433. ***Wahrlich,** W., (1) Scripta botanica. Petersburg 1890/1. ***Weigert,** (1) Schmidt's Jahrbücher, 1887. ***Winogradsky,** (1) Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien I, 1888. ***Zacharias,** E., (1) Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1889, VII, S. (31). — (2) Bot. Zeitg., 1890. ***Zettnow,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. X, S. 689. — (2) Z. f. Hyg., 1897, Bd. 24, S. 72. — (3) Z. f. Hyg., Bd. XXX. — (4) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 27. ***Zopf,** (1) Spaltpilze, III. Aufl. ***Zopf und Liesenberg,** (1) Zopf's Beitr. z. Phys. u. Morph. nied. Organismen, 1892, H. I, S. 1

(*Manuskript-Einlauf: 13. Jan. 1904*)

3. Kapitel.

Die Eigenbewegung der Bakterien.

§ 17. Die Auffindung der Geißeln und die Ansichten über deren Beziehungen zur Eigenbewegung.

Leeuwenhoek (1), der Entdecker der Bakterien, beobachtete auch gleichzeitig ihre Beweglichkeit und bildet sogar (siehe *Fig. 1* auf S. 5) in nicht mißzuverstehender Weise den Weg ab, den ein von ihm beobachtetes bewegliches Bakterienstäbchen genommen hatte. Indessen fand er, wie das bei der Beschaffenheit der Mikroskope und dem Stande der mikroskopischen Technik jener Zeit selbstverständlich war, keine Bewegungsorgane. Diese wurden vielmehr erst von Ehrenberg (1) und zwar zuerst bei *Ophidomonas jenensis* gesehen, aber entsprechend der Auffassung, die er von den Bakterien hatte, als sehr zarte Rüssel gedeutet. Später sah Cohn (1) auch bei *Spirillum volutans* und *Ophidomonas sanguinea* eine polare Geißel, erwähnt aber eine Beobachtung Warming's, der auch 2—3 Geißeln an einem Pol wahrgenommen hatte. Auch spricht er die Vermutung aus, daß wohl alle beweglichen Bakterien Geißeln besäßen, daß sie nur wegen ihrer Feinheit nicht bei den kleineren Arten zu sehen seien. Bei *Bacterium termo* glaubten Dallinger und Drysdale (1) eine polare Geißel bei 3700facher Vergrößerung gesehen zu haben, und ein Jahr später bildet Warming (1) eine größere Zahl verschiedener, meist roter Schwefelbakterien mit Geißeln ab.

Weiter kam man ohne besondere Hilfsmittel nicht. Die außerordentliche Zartheit der Gebilde stand der direkten Beobachtung im Wege. Da gelang es R. Koch (1), die Geißeln einiger an Deckgläsern eingetrockneten Bakterienarten durch die photographische Platte nachzuweisen und außerdem fand er auch in dem Extractum campechianum ein Mittel, die Geißeln zu färben. Freilich gelang die Färbung nur bei manchen Arten und auch Neuhaus (1) konnte nicht bei allen beweglichen Bakterien durch seine Beizung mit Kaisertinte Geißeln sichtbar machen.

Das Problem der Geißeltärbung wurde erst durch Löffler (1) in vollständiger Weise gelöst. Durch vorhergehende **Beizung** der Deckglaspräparate mit einer Ferrotannatbeize (10 ccm einer 20proz. Tanninlösung mit 5 ccm einer kaltgesättigten Ferrosulfatlösung und 1 ccm einer alkoholischen Fuchsin- oder Gentianaviolettlösung) und nachheriger Färbung mit Anilinwasserfuchsin (oder -gentianaviolett) gelang es ihm, die Geißeln bei allen Bakterien sichtbar zu machen, die Beweglichkeit

zeigten. Später wurden eine große Zahl von Färbungsmethoden der Geißeln bekannt, unter denen besonders die von VAN ERMENGEM (1) zu erwähnen ist, bei welcher eine Schwarzfärbung der Geißeln durch Niederschlagung von Silber entsteht.

5 Über die Natur der fadenförmigen Gebilde und über ihre Beziehung zur Bewegung war man jedoch sehr verschiedener Ansicht. NÄGELI (1) nahm auch bei den Schwärmzellen der Algen an, daß die Bewegung durch Endosmose und Exosmose hervorgerufen werde und daß die Cilien keine aktive Rolle dabei spielten. Andere Forscher, speziell EHRENBERG, 10 COHN, KOCH, hielten die Geißeln für die Bewegungsorgane und sprachen die Vermutung aus, daß sie später auch bei allen anderen beweglichen Arten aufgefunden werden würden.

Dagegen schloß VAN TIEGHEM (1) gerade aus dem Umstande, daß die Geißeln nur bei einem kleinen Teil der beweglichen Arten nach- 15 zuweisen seien, daß sie keine Bewegungsorgane, sondern überflüssige **Anhängsel** des Bakterienleibes seien. Er wurde in dieser Auffassung noch dadurch bestärkt, daß sich die Geißeln nicht leicht färbten, sondern sich hierin der Membran ähnlicher verhielten als dem Plasma, während sie doch als Bewegungsorgane plasmatischer Natur sein müßten. Er 20 glaubt vielmehr, daß die Bewegung bei den Bakterien durch Kontraktionen des Plasmas zustande kommen. Auch HUEPPE (1) und DE BARY (1) neigen der gleichen Ansicht zu, ohne dagegen für einzelne Fälle, z. B. für die Schwärmer von *Cladothrix dichotoma*, die Möglichkeit auszuschließen, daß dennoch echte Cilien als Bewegungsorgane tätig sein 25 könnten.

Durch LÖFFLER's Nachweis des allgemeinen Vorkommens von Geißeln bei allen beweglichen Bakterienarten und des Fehlens derselben bei allen unbeweglichen war der Beweis der Natur der Geißeln als **Bewegungsorgane** fast vollständig erbracht und FISCHER's (1) ausgedehnte 30 Untersuchungen ließen darüber keinen Zweifel mehr. Auch eine zufällige direkte Beobachtung von mir kann als Stütze für diese neuerdings wohl nicht mehr ernstlich bestrittene Auffassung von der Natur der Geißeln als Bewegungsorgane dienen. Ich (1) konnte bei *Spirillum volutans* direkt an lebenden, sehr langsam beweglichen Individuen die 35 Geißeln erkennen und feststellen, daß die Bewegung zuerst stets an der Spitze der Geißel beginnt, schraubenförmig an dieser herabläuft und sich dann erst dem Körper mitteilt. Die Geißel ist also nach dieser Beobachtung offenbar aktiv beweglich und wird nicht passiv durch die Bewegungen der Zelle in Mitleidenschaft gezogen.

40 § 18. Art und Weise der Bewegung.

Die Bewegung der Bakterien stellt sich, sofern man von der nicht als Eigenbewegung zu deutenden BROWN'schen Molekularbewegung absieht, zumeist als eine mit Ortsveränderung verbundene **Schraubendrehung** um die eigene Längsachse dar. Freilich wird man dies nur 45 dann mit Sicherheit erkennen, wenn die sich bewegenden Bakterienzellen hinreichend groß sind, sich langsam bewegen und womöglich durch Körnchengehalt oder ähnliche Merkmale die Beobachtung der Drehung besonders gut ermöglichen. Eine solche Schraubendrehung findet sicher bei allen Schraubenbakterien wahrscheinlich wohl bei allen polar begeißelten 50 Bakterien überhaupt statt. Ebenso ist sie bei rascherer Vorwärts-

bewegung auch den diffus begeißelten Stäbchen eigen; bei diesen kommt es jedoch häufig noch zu einer eigenartigen wackelnden oder zitternden Bewegung, bei welcher der Bakterienkörper keine Drehung ausführt, aber doch langsame Ortsveränderungen. Bei den Schraubenbakterien beginnt die Bewegung an der Geißelspitze und läuft schraubenförmig 5 an der Geißel bis zum Bakterienkörper herab, diesen selbst in die Schraubenbewegung versetzend. Bei den diffus begeißelten Stäbchenbakterien dagegen ist die Bewegung der Geißeln vermutlich eine wellenförmige.

Nicht alle Bakterienarten besitzen Eigenbewegung; wenn es auch 10 nach den Arbeiten von Meyer (1) und Ellis (1, 2) gelingt, durch besondere Kultur Beweglichkeit und Begeißelung bei vielen Arten, besonders bei Coccaceen, zu erzielen, die bisher für unbeweglich galten, so scheinen doch viele Stäbchenbakterien tatsächlich unter keinerlei Kulturbedingungen in bewegliche Zustände übergeführt werden zu 15 können.

Ferner ist auch die **Dauer der Beweglichkeit** innerhalb einer Vegetationsperiode bei den einzelnen Arten sehr verschieden. Manche machen nur einen verhältnismäßig kurzen Schwärmzustand durch, wie *Bacillus subtilis*, dann kommen die Stäbchen zur Ruhe, die Geißeln 20 werden abgeworfen. Andere Arten, wie *Bacillus Chauvoei*, der Organismus des Rauschbrandes, bleiben selbst dann noch beweglich, wenn sie bereits fast reife Sporen enthalten. In den meisten Fällen stellt sich die Beweglichkeit bald nach der Sporenkeimung an den jungen Keimstäbchen ein. Bei fadenbildenden Bakterien erlischt sie gewöhnlich bei 25 Beginn der Fadenbildung, jedoch nicht immer. *Pseudomonas aromatica* bildet mitunter bis 80 μ lange und noch lebhaft bewegliche Fäden.

Wenn solche längere Fäden sich bewegen, kommt auch eine zweite mit der Schraubendrehung in Zusammenhang stehende Erscheinung der Bewegung zur Wahrnehmung, die wahrscheinlich auch bei einzelnen 30 kurzen Stäbchen stets vorhanden ist, hier aber nicht beobachtet werden kann. Die Pole des Fadens oder langen Stäbchens beschreiben kleinere oder größere Kreise, während die Mitte an diesen Bewegungen nicht teilnimmt. Daneben finden auch unregelmäßige Krümmungen des Bakterienkörpers statt, die aber meiner Ansicht nach durchaus passiver 35 Natur sind, hervorgerufen durch ungleiche Bewegungsintensität an den verschiedenen Punkten des Fadens, nicht durch Plasmakontraktionen bedingte Erscheinungen.

Wesentlich anders stellt sich die Bewegung bei zwei ebenfalls den Bakterien zugerechneten Organismen dar, die jedoch keine Geißeln zu 40 besitzen scheinen, bei *Beggiatoa* und bei *Spirochaete.*

Die Bewegungen von *Beggiatoa* sind ganz analog denen der Oscillarien und finden nur statt, wenn die Fäden eine feste Unterlage, oder wenigstens einen Stützpunkt haben; sie charakterisieren sich also als eine **Kriechbewegung,** nicht als Schwimmbewegung, wie bei den 45 übrigen Bakterien. Die Bewegung ist eine dreifache, eine Vorwärtsbewegung, eine schraubige Drehung des Körpers, die bei oberflächlicher Betrachtung als Wellenbewegung erscheint und endlich die Bewegung eines Kegelpendels, wie sie auch ähnlich bei anderen Bakterien beobachtet wird. Auch zeigt der Bakterienkörper deutliche, wenn auch nicht sehr beträchtliche Flexilität. Ein freies Schwimmen ist den *Beggiatoa* Fäden nicht möglich, es ist also auch unwahrscheinlich, daß sie Geißel

besitzen. Die Art und Weise, wie die Bewegung zustande **kommt, ist** indessen noch unbekannt.

Der zweite Organismus, dessen Bewegung von der der übrigen Bakterien abweicht, ist *Spirochaete*, von welcher Gattung *Spirochaete* 5 *plicatilis* in Sümpfen weit verbreitet ist und leicht als Beobachtungsmaterial dienen kann. Geißeln lassen sich auch bei ihr nicht sichtbar machen, dagegen werden die zierlichen eng gewundenen Schrauben durch Färbung nach der LÖFFLER'schen Methode vier- bis sechsmal so dick, was darauf hinzuweisen scheint, daß sie von einer Gallertmembran 10 umgeben sind, die in Beziehung zu der Bewegung steht. Im allgemeinen ist die Art und Weise der Bewegung der von *Beggiatoa* ähnlich, nur viel lebhafter und durch eine viel größere Flexilität des Körpers unterstützt. Abgesehen von einer wahrscheinlich irrtümlichen Beobachtung EHRENBERG's ist bei *Spirochaete plicatilis* ein Schwimmen niemals wahr- 15 genommen worden, sondern stets nur ein — allerdings sehr rasches — mit schraubiger Drehung verbundenes Fortkriechen auf einer Unterlage, sowie eine auffallende Flexilität des Körpers, die es ermöglicht, daß sich die beiden Enden ein und derselben Schraube umeinander ringeln können.

20 Bei den Gonidien von *Thiothrix* kommt noch eine eigentümliche von WINOGWADSKY (1) beobachtete Art der Bewegung vor. Am Ende des *Thiothrix*-Fadens gliedert sich ein 8—9 μ langes Stück ab und wird, ohne sich von dem Faden loszulösen, beweglich, schwankt hin und her und legt sich mit dem Fadenende dem Substrat an, auf dem es langsam 25 soweit fortkriecht, daß es schließlich sich von dem Fadenende loslöst. Das freigewordene Stäbchen bewegt sich noch eine zeitlang kriechend auf der Unterlage fort. Alle Bewegungen sind sehr träge und durch öftere Ruhepausen unterbrochen. Ein besonderes Bewegungsorgan ist bei *Thiothrix* nicht beobachtet worden.

30 Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß die Eigenbewegung der Bakterien unter dem Mikroskop unter Umständen mit zweierlei Bewegungserscheinungen verwechselt werden kann, mit der BROWN'schen Molekularbewegung und mit der durch Strömungen im Substrat entstehenden passiven Fortbewegung der Bakterien.

35 Die **Brown'sche Molekularbewegung** ist ihrem Wesen nach noch nicht genau bekannt; man hat in früherer Zeit die Ausgleichung kleiner elektrischer Spannungen zwischen den kleinen in einer Flüssigkeit suspendierten Körperchen, später Ausgleichung von Oberflächenspannungen zur Erklärung herangezogen, in jedem Falle ist sie keine Lebenserschei- 40 nung, sondern kommt allen möglichen toten oder lebenden in einer Flüssigkeit suspendierten sehr kleinen Körperchen zu. Nach ALI-COHEN (2) kann man in zweifelhaften Fällen zwischen Eigenbewegung und Molekularbewegung dadurch unterscheiden, daß man verflüssigte 5 proz. Gelatine hinzutreten läßt; der Zusatz genügt in der Regel so- 45 fort, jedenfalls aber beim allmählichen Erstarren und Zähewerden der Gelatine die BROWN'sche Molekularbewegung aufzuheben, während die Eigenbewegung fortdauert. Indessen läßt sich bei hinreichender Übung auch durch direkte Beobachtung Molekularbewegung von Eigenbewegung sicher unterscheiden. Bei ersterer bleiben die tanzenden Körperchen 50 doch immer am gleichen Ort, während bei Eigenbewegung, auch wenn sie noch so langsam und zitternd ist, eine wenigstens geringe Ortsveränderung eintritt.

Strömungen in der Flüssigkeit, hervorgerufen durch Mischungs-

vorgänge, oder wenn man lebende Bakterien in dünner Schicht zwischen Deckglas und Objektträger beobachtet, durch Verdunstung am Rande des Deckgläschens und Nachströmen der Flüssigkeit nach der Verdunstungszone, charakterisieren sich gegenüber der Eigenbewegung dadurch, daß eine größere Zahl benachbarter Individuen nach der gleichen 5 Richtung fortgerissen werden. Bei Eigenbewegung ist die Richtung, in der sich die einzelnen benachbarten Individuen bewegen, stets eine ganz verschiedene, oft ganz entgegengesetzte, bei großer Lebhaftigkeit dem Verhalten eines „tanzenden Mückenschwarmes" ähnlich.

§ 19. Gestalt, Bau und Anhaftung der Geißeln. 10

Die Bakteriengeißeln sind, abgesehen von wenigen abweichenden Beobachtungen, ziemlich gleichartig gebaut: feine, fadenförmige, mehr oder weniger wellig resp. schraubig gebogene Gebilde, die sich nur hinsichtlich der Länge, Dicke und Krümmung voneinander unterscheiden. Sie erreichen bei mittelgroßen Bakterien etwa den 20. Teil der Dicke 15 des Bakterienkörpers, haben also, wenigstens in gefärbtem Zustande, etwa 0,05 μ Durchmesser, in ungefärbtem sind sie vielleicht noch dünner, denn es ist nicht unwahrscheinlich, daß sie infolge der Beizung etwas quellen. Wenn man die Geißeln längere Zeit und wiederholt nach der Löffler'schen Methode beizt, können sie unter Umständen fast so 20 dick als der Bakterienkörper werden.

Die **Länge** der Geißeln ist bei den einzelnen Arten ziemlich konstant, aber bei jeder Art anders, sie ist unter Umständen sogar ein gutes Artmerkmal. In den meisten Fällen sind die Geißeln etwas kürzer oder etwas länger als die Bakterienzelle, manchmal, wie bei *Pseudomonas* 25 *makroselmis* und bei einigen beweglichen Coccaceen (*Taf. II, Fig. 3*) können sie bis 20 mal so lang als die Zelle selbst werden. Etwas beeinflußt wird die Länge der Zellen bei der gleichen Art durch das Alter der Kultur; an ganz alten aber noch gut beweglichen Kulturen können die Geißeln bis doppelt so lang werden als bei jungen. An ein 30 und demselben Individuum können die Geißeln ebenfalls sehr verschieden lang sein; oft beobachtet man ganz kurze, die nur den vierten Teil der normalen Geißellänge, aber normale Dicke zeigen. Es sind dies wahrscheinlich Reste abgerissener Geißeln, die bei den auf engem Raum zusammengedrängten Bakterien sich mit den Geißeln anderer Individuen 35 verwickelt und infolge der Bewegung der Zellen losgerissen haben, ein Vorgang, der fortwährend passiert und gelegentlich zur Bildung der später noch zu besprechenden Geißelzöpfe führt. Auch sieht man in jedem Geißelpräparat, namentlich bei sehr geißelreichen Bakterien, mehr oder weniger zahlreiche **abgerissene Geißeln** zerstreut zwischen den 40 Bakterien.

Hinsichtlich der **Dicke** der Geißeln bei verschiedenen Arten lassen sich bestimmte Angaben sehr schwer machen. Ich möchte glauben, daß bei manchen großen Spirillen die Geißeln dicker sind als bei kleinen Bakterien. Aber bei der Beurteilung dieser Geißeln kommen zwei nicht 45 auszuschließende Fehlerquellen in Betracht, nämlich die Einwirkung der Beize, wodurch eine nicht regulierbare Quellung hervorgerufen wird, und die Neigung der Geißeln, gerade bei den großen Spirillen, in Stränge von verschiedener Dicke zusammenzukleben.

Hinsichtlich der **Krümmung** der Geißeln sind ziemlich konstant·

Unterschiede zwischen den Schraubenbakterien und den Stäbchenbakterien vorhanden. Bei letzteren erscheinen die Geißeln im Präparat mehr oder weniger regelmäßig wellenförmig gekrümmt, bei ersteren sind sie meist halbkreisförmig gebogen (*Taf. II, Fig. 8*), wenigstens bei der Gattung *Spirillum* mit mehreren polaren Geißeln. Die Formen der Schraubenbakterien mit nur einer polaren Geißel (*Taf. II, Fig. 7*) schließen sich in bezug auf die wellige Krümmung den Stäbchenbakterien an. Unter diesen zeigen wieder die polar begeißelten Arten besonders regelmäßige Wellenform (*Taf. II, Fig. 6*), während die diffus begeißelten weit weniger regelmäßig wellig gekrümmte Geißeln besitzen (*Taf. II, Fig. 1—4*). Ich möchte noch hervorheben, daß die infolge des Antrocknens an das Deckglas als wellig erscheinenden Krümmungen der Geißeln in Wirklichkeit jedenfalls schraubige sind, wie dies bei großen Spirillen (z. B. *Sp. volutans*) an lebenden Zellen direkt beobachtet werden kann.

Im allgemeinen zeigen die Bakteriengeißeln keine feinere **Struktur** und unterscheiden sich hierin von den Geißeln der Flagellaten und Infusorien, bei denen Kuenstler (1) und insbesondere Fischer (2) verschiedene Strukturen und Differenzierungen nachgewiesen haben. In neuester Zeit gibt jedoch Bütschli (1) für einige Schwefelbakterien und für *Spirillum volutans* eine Struktur der Geißeln an. Er findet bei einigen Arten (*Rhabdomonas rosea, Ophidomonas jenensis*), daß die Geißeln bald einfach erscheinen, bald zerfasert und zwar so, daß sie sich nach der Spitze zu in feinere Fäserchen auflösen. Während man nun im allgemeinen diese Erscheinung so deutet, daß die Geißeln zu einem Schopf zusammengeklebt und nur am Ende mehr oder weniger frei sind, nimmt Bütschli an, daß es sich in der Tat um eine einzige Geißel handelt, die nur in verschiedener Weise sich zerfasert. Als Stützen für seine Auffassung führt er den Gesamteindruck einer großen Zahl beobachteter Fälle an, ferner die Analogie mit den Cirrengebilden der hypotrichen Ciliaten, mit den Geißelfäden tierischer Spermatozoen usw., und schließlich die Beobachtung, daß bei Teilungszuständen von *Ophidomonas jenensis* die neugebildete Geißel einfach, die alte hingegen zerfasert ist.

Der letzte Punkt dürfte allerdings die Einwendung erlauben, daß es kaum mit Sicherheit gelingen wird, in einem gefärbten Geißelpräparat
bestimmen, welches die alte und welches die neugebildete Geißel ist,
n nicht eben von der erst zu beweisenden Annahme ausgeht,
n gebildete einfach, die alte aber zerfasert ist. Auch gegen
Gründe Bütschli's für die Zerfaserung der Geißeln in den
bachteten Fällen läßt sich mancherlei anführen. So ver-
eißeln bei manchen Bakterien nicht immer nur an der
mitunter auch an der Spitze, während sie an der Basis
odurch bei Beobachtung solcher Bildungen keineswegs der
k der Zerfaserung hervorgerufen wird. Auch die Analogie
en dürfte nicht ganz stichhaltig sein. Denn als Charakter
i den hypotrichen Ciliaten gilt speziell die allmähliche
ch der Spitze, was den Bakteriengeißeln im allgemeinen
Bei den von Bütschli angeführten Fällen würde man
dann von einer Analogie mit den Cirren reden können,
Verjüngung der Geißeln tatsächlich vorhanden wäre,
ben durch die Analogie mit den Cirren zu erweisen
che gilt von der Zerfaserung. Die Verjüngung wird
usammenkleben ungleich langer Geißeln ohne Schwierig-

keiten erklärt. Analogien für einen Verklebungsprozeß mögen vielleicht allerdings bei anderen begeißelten Organismen nicht vorkommen, dagegen gibt es solche unzweifelhafte Verklebungen häufig bei den Bakterien, wenn wir uns dabei auch nicht die Vorstellung davon machen dürfen, als seien die Geißeln wie durch eine Leimschicht zusammen- 5 gehalten. Es ist vielmehr wohl nur ein leichtes Adhärieren dieser weichen Organe, welches namentlich beim beginnenden Eintrocknen auf dem Deckglas erfolgen wird und natürlich da am leichtesten und vollkommensten auftreten wird, wo die adhärierenden Gebilde fast gleiche Biegung zeigen, wie die halbkreisförmige Krümmung der Spirillengeißeln. 10 Bei den wellig krausen Bazillusgeißeln kommt ein solches Adhärieren weit schwieriger zustande, aber auch bei Bazillen ist es nicht gerade selten zu sehen. Und ein sehr typisches Beispiel für das Zusammenkleben der Geißeln sind die oft kolossale Dimensionen erreichenden Geißelzöpfe, die besonders beim Rauschbrandbazillus in üppiger Ent- 15 wicklung beobachtet worden sind. Auch hier sieht man von den kleinsten aus wenigen Geißeln bestehenden Zöpfchen bis zu den größten die Bakterienzelle um das Mehrfache an Dicke und Länge übertreffenden Gebilden alle Abstufungen, und namentlich an den kleineren auch freie Enden von Geißeln, die lebhaft an die Geißelstränge 20 mit aufgelösten Enden bei Spirillen erinnern. Allerdings hat auch auf mich namentlich bei *Spirillum undula* und *Spirillum serpens* die Begeißelung anfangs oft den Eindruck gemacht, als ob es sich um zerfaserte Geißeln handle, indessen bin ich durch Vergleichung eines großen Materials von begeißelten Bakterien davon abgekommen. Jedenfalls 25 aber, auch wenn sich diese Zerfaserung an den von Bütschli beobachteten Fällen als richtig erweisen sollte, kann man bei der überwiegenden Mehrzahl der Bakterien eine solche sicher nicht feststellen.

Bei *Ophidomonas jenensis* konnte Bütschli in seltenen Fällen noch eine andere Struktur wahrnehmen, nämlich eine regelmäßige Quer- 30 bänderung durch dunklere Linien. An *Chromatium Okenii* zeigte die Geißel in ziemlich regelmäßigen Abständen dunklere Stellen, während die dazwischen liegenden, schwächer gefärbten Verbindungsstücke etwas spindelig angeschwollen waren. Bütschli deutet diese Erscheinung so, daß die Geißel von *Chromatium* bandförmig und steil schraubig gedreht 35 sei, die auf der hohen Kante liegenden Stellen des Schraubenbandes deshalb dunkler und enger, die auf der breiten Seite liegenden heller und breiter erscheinen. Auch bei *Spirillum volutans*, dessen Zeichnungen jedoch trotz Bütschli's Behauptung mit denen Cohn's nicht im mindesten übereinstimmen, glaubt Bütschli eine ähnliche Bildung annehmen 40 zu können.

Weitere Angaben über die Struktur der Bakteriengeißeln liegen nicht vor.

Ihrer Natur nach sind die Geißeln jedenfalls protoplasmatische Gebilde und also aus eiweißartigen Körpern bestehend, aber jedenfalls 45 anders beschaffen als der plasmatische Zellinhalt. Chemische Reaktionen sind bei der außerordentlichen Feinheit der Gebilde unzuverlässig, in bezug auf Farbstoffe verhalten sie sich verschieden vom Inhalt der Zelle und stimmen eher mit der äußeren Gallerthülle der Bakterien überein, deren Färbung auch nicht ohne weiteres, dagegen sicher durch 50 die Löffler'sche Beize gelingt. In Pepsinlösung sind sie in einem von mir beobachteten Fall auch noch in gefärbten Präparaten verschwunden, wahrscheinlich gelöst worden.

Die Geißeln stehen entweder an den Polen oder über den Körper regellos zerstreut; nur bei den beweglichen Gonidien von *Cladothrix dichotoma* ist eine Insertion der Geißeln etwas unterhalb des einen Poles beobachtet worden. Allerdings zeigen auch manche andere polar begeißelte Arten, daß die Geißeln nicht immer mathematisch genau an dem Pol entspringen, und diese Erscheinung tritt noch weit deutlicher hervor, wenn mehrere Stäbchen zu einer Kette vereinigt sind und noch an den Enden zusammenhängen, während doch schon an den Teilungsstellen Geißeln entwickelt sind. Die Geißeln scheinen dann an den Ecken, wo die Querwand in die Längswand übergeht, zu entspringen. Kann man in solchen Fällen eine Teilungswand nicht erkennen, was in den stark überfärbten Geißelpräparaten sehr oft der Fall ist, so liegt die Möglichkeit nahe, eine über den ganzen Körper zerstreute Begeißelung anzunehmen. Indessen werden in solchen Präparaten immer die meisten Bakterien nur polare Geißeln zeigen und man wird, wo ein Zweifel walten kann, durch Entfärbung mit Alkohol die Teilungswand nachweisen können.

Umgekehrt kommt es bei **diffus** begeißelten Bakterien manchmal vor, daß die an den Längsseiten des Körpers stehenden Geißeln mehr oder weniger verschwunden sind und die Stäbchen polar begeißelt erscheinen. Dieser Fall ist bei Bakterien mit wenig Geißeln nicht selten, ich habe ihn z. B. öfter bei dem Kieler Bazillus beobachtet; im allgemeinen kommt es aber nur in älteren Kulturen zu einem solchen Verlust der seitlichen Geißeln, frische, junge Kulturen zeigen diese Erscheinung nicht. Auffallend ist allerdings, daß fast immer die seitlichen Geißeln zuerst verloren gehen. Doch findet man auch hier in einem Präparat neben solchen scheinbar nur polar begeißelten Formen auch solche, bei denen die diffuse Begeißelung noch vollständig erhalten oder doch durch stehengebliebene Reste der verlorenen Geißeln angedeutet ist.

Zuweilen kann eine Täuschung auch dadurch herbeigeführt werden, daß die Geißeln beim Eintrocknen sich eine Strecke weit an den Körper anlegen und polare dann von den Seiten, seitliche von den Polen auszugehen scheinen. Man kann solche Bilder zwar vereinzelt in jedem Präparat beobachten, aber mitunter zeigen sich, wohl infolge gewisser Vorgänge beim Eintrocknen auf dem Deckgläschen, fast alle Geißeln in der einen oder anderen Weise beeinflußt. Man wird solche Zufallsbildungen schon an der überall gleichsinnigen Richtung der Geißeln erkennen können.

Über die **Insertion** der Geißeln und ihren Zusammenhang mit dem Zellplasma herrschen zwei verschiedene Ansichten. ZETTNOW (1) nahm an, daß sie von dem „Ectoplasma" ausgehen, und ähnlicher Ansicht ist neuerdings auch GOTSCHLICH. Ich (1) hatte auf Grund gewisser Erscheinungen bei manchen Geißelfärbungen mich früher zu der Annahme berechtigt geglaubt, daß die Geißeln direkt in die äußere Hülle der Bakterien übergehen, zumal auch die Hülle eiweißartiger Natur bei den Bakterien ist. Indessen sind die theoretischen Gründe, die gegen diese Auffassung sprechen, doch zu gewichtig, als daß sie von mir unbeachtet bleiben könnten.

In manchen Geißelpräparaten sieht man nämlich um die eigentlichen Zellen eine oft ziemlich weite und zwar gegen außen scharf abgegrenzte Hülle, welche direkt in die Geißeln übergeht und sich genau wie diese färbt, ein Durchdringen der Geißeln durch diese Hülle bis zu dem Bakterienkörper konnte von mir niemals festgestellt werden. Ähnliche

Beobachtungen machten auch Bunge (1), Hinterberger (1), Babes (1), Remy und Sugg (1), obwohl diese letzteren vielleicht Bildungen, die auf andere Art zustande gekommen waren, vor sich hatten. Fischer hält diese von den letztgenannten Autoren gesehenen „Kapseln“, von denen die Geißeln ausgehen, wohl mit Recht für zufällige Bildungen, die den Bakterien nicht zugehören.

Was mich zu der Annahme bestimmte, daß es sich in den von mir speziell bei *Bacillus subtilis* genauer untersuchten Fällen um die äußere Bakterienhülle handele, die aus irgend welchen Ursachen sich nicht um den Bakterienkörper gelegt, sondern im Gegenteil aufgebläht hatte, war, daß die von solchen Hüllen umschlossenen Stäbchen entschieden viel dünner waren, als andere, die solche eiförmige Hüllen nicht zeigten. Daß es sich in diesen Fällen nicht um ein bloßes Verquellen der Geißelbasis handeln konnte, war einmal daraus, dann aber auch aus der äußerst regelmäßigen Gestalt der Hülle zu entnehmen. Da ich aber diese Beobachtungen ebenso wie die der oben zitierten Forscher, die allerdings teilweise ganz anders zu deuten sind, nicht für genügend beweiskräftig halte, so besitzt die andere Anschauung, nach welcher die Geißeln nicht von der äußeren Hülle, sondern von dem Zellplasma aus entspringen, zurzeit eine entschieden größere Berechtigung.

Bei allen anderen mit Geißeln versehenen niederen Organismen, insbesondere bei Flagellaten und den beweglichen aber mit einer festen Membran umgebenen Algenzellen durchbrechen die Geißeln die Membran und gehen in das Plasma der Zelle über. Es ist also schon aus diesem Grunde wahrscheinlich, daß dasselbe Verhältnis auch bei den Bakterien bestehen wird. Nun fand Fischer (3) allerdings bei plasmolysierten Bakterien, daß die Beweglichkeit nicht unterbrochen wurde, auch wenn sich bei polar begeißelten Bakterien das Plasma von den Polen zurückgezogen hatte. Die Möglichkeit, daß ein geringer Rest an der Geißelbasis zurückgeblieben war, muß allerdings zugegeben werden. Trenkmann (1) glaubt sogar die Durchbrechung der Membran durch die Geißeln und deren Eintritt in das Plasma direkt beobachtet zu haben, was allerdings, soweit mir bekannt, keinem anderen Forscher gelungen ist. Denn auch Ellis (2) hat nur eine Lücke in der Membran gesehen. Ein anderer Grund, der schwer zugunsten dieser Anschauung ins Gewicht fällt, ist die Beobachtung Fischer's (5), daß bei Plasmoptyse oder bei gewissem Druck der Deckgläschen das Zellplasma bei polar begeißelten Bakterien an den Polen austritt. Das würde zu dem Schlusse führen, daß an den Polen ein locus minoris resistentiae (eine Stelle schwächsten Widerstandes) vorhanden ist und am leichtesten mit einer Öffnung in der Membran als Durchtrittsstelle für die Geißeln zu erklären sein. Auch Meyer (2) hält an dem Zusammenhang der Geißeln mit dem Protoplasma der Zelle fest.

Die **Anzahl** der einer Zelle zukommenden Geißeln ist bei den einzelnen Arten resp. Gattungen verschieden. Bei den Schraubenbakterien besitzt eine Anzahl nur eine, ausnahmsweise zwei Geißeln, während andere ganze Büschel von Geißeln aufweisen; stets aber stehen sie polar. Bei den Stäbchenbakterien gibt es Arten mit diffuser Begeißelung, bei welcher die Geißeln über den ganzen Körper zerstreut, also stets in Mehrzahl sind, und solche mit polarer. In letzterem Falle sind entweder nur eine oder mehrere oder ganze Büschel von Geißeln vorhanden.

Bei Arten, die mehrere Geißeln besitzen, kann die Zahl innerhalb gewisser Grenzen schwanken. Auch hier kommen reich und schwach

begeißelte Arten vor. Außergewöhnlich reich begeißelt ist z. B. *Proteus vulgaris* (*Bacillus vulgaris*), der Rauschbrandbazillus, auch der Tetanusbazillus, arm begeißelt *Bacillus coli*, der Kieler Bazillus, *Bacillus prodigiosus*. Bei letzteren kommen etwa 3—6, bei den ersteren 12—30 Geißeln jedem Stäbchen zu und beim *Proteus* können längere Stäbchen, die aus mehreren Zellen zusammengesetzt sind, von einem dichten Mantel aus welligen Geißeln umgeben sein. Bei der einzelnen Art ist die Zahl der Geißeln, wenn überhaupt mehrere vorhanden sind, nicht so bestimmt, auch schon deshalb nicht, weil fortwährend ein Verlust von Geißeln durch Abreißen stattfindet.

Bei allen polar begeißelten Bakterien stehen die Geißeln an jungen, eben erst geteilten Zellen stets nur an einem Pol, an älteren vor der Teilung stehenden gewöhnlich an beiden Polen. Bleiben die Zellen nach der Teilung, wie dies zuweilen vorkommt, noch längere Zeit verbunden, so können sogar an der Trennungsstelle noch Geißeln hervorbrechen. Der Zeitpunkt, an welchem der andere Pol einer sich teilenden Zelle ebenfalls Geißeln erhält, ist sehr verschieden und so findet man bei manchen Arten nur selten (Bakterium des grünen Eiters) bei anderen (Spirillen) sehr häufig Zellen, die an beiden Polen Geißeln besitzen.

Zu erwähnen ist auch das Vorkommen von geißelähnlichen Kunstprodukten in gefärbten Präparaten, die unter Umständen zur Verwechslung mit Geißeln Veranlassung geben können. Sie treten namentlich bei reichlich schleimabsondernden Bakterien auf und stellen dann feine Fäden dar, die zwischen den Bakterien verlaufen.

§ 20. Die Bedeutung äußerer Einflüsse auf die Beweglichkeit der Bakterien. Chemotaxis.

Die Beweglichkeit der Bakterien ist an gewisse äußere Bedingungen gebunden. Auch wenn die Geißeln gut entwickelt sind, können doch bei ungünstigen äußeren Verhältnissen Perioden der Unbeweglichkeit eintreten. Ebenso kann durch äußere Reize die Richtung der Bewegung bestimmt werden.

Da die Bewegung der Bakterien eine reine Schwimmbewegung ist, so kann dieselbe auch nur dann erfolgen, wenn eine genügende Menge Flüssigkeit, in der die Bakterien zu schwimmen vermögen, vorhanden ist. Trockene Bakterien, auch wenn ihnen noch so viel Feuchtigkeit zur Verfügung steht, daß Nahrungsaufnahme, Wachstum und Teilung gerade noch erfolgen kann, sind unbeweglich; es tritt dann ein Zustand der **Trockenstarre** mit Rücksicht auf die Beweglichkeit ein, bei welchem andere Lebensfunktionen der Bakterienzelle noch fortbestehen können.

Einen ebenso bedeutenden Einfluß auf die Beweglichkeit der Bakterien übt die **Temperatur** aus, indessen sind hier die einzelnen Bakterienarten sehr ungleich empfindlich. Unter 0° C hört natürlich jede Bewegung auf, aber bei wenigen Graden über dem Gefrierpunkt sind viele Arten schon lebhaft beweglich, einige im Meerwasser vorkommende Leuchtbakterien sogar schon zwischen 0 und 1° C. Der *Bacillus prodigiosus* ist bei Zimmertemperatur meist wenig oder gar nicht beweglich, wird dagegen bei Temperaturen um 30° C lebhaft beweglich. Auch die obere Grenze der Temperatur in bezug auf die Beweglichkeit liegt für die einzelnen Bakterienarten verschieden hoch. Matzuschita (1) fand für eine Anzahl Arten, daß Temperaturen von 37° C die Beweglichkeit

bereits meist ungünstig beeinflussen, bei manchen, z. B. bei *Bacillus fluorescens non liquefaciens*, schon hindern; nur wenige, z. B. *Bacillus subtilis*, zeigen bei 37° C eine lebhaftere Eigenbewegung als bei 20°. Nach meinen Beobachtungen sind fast alle aus Wasser stammenden fluoreszierenden Arten bei Blutwärme nicht mehr beweglich, wachsen auch oft nicht mehr gut. Auch hier kann man mit Rücksicht auf die Beweglichkeit von Starrezuständen, von **Kälte-** und **Wärmestarre,** reden, die ebenfalls unabhängig von der Wirkung auf andere Lebensfunktionen eintreten können.

Bakteriengifte, auch in verhältnismäßig geringen Dosen, heben die Beweglichkeit oft momentan auf; allerdings wird es sich hier meist nicht mehr um Starrezustände, sondern um einen direkten Verlust der Geißeln handeln.

Daß zum Zustandekommen von Beweglichkeit auch ein gewisses Maß von Nahrungsstoffen erforderlich ist, wurde bereits in einem früheren Abschnitt hervorgehoben.

Auf die **Richtung der Bewegung** sind hauptsächlich chemische Einflüsse von Bedeutung. Die beweglichen Bakterien werden durch den Reiz, der von bestimmten chemischen Körpern auf sie ausgeübt wird, entweder angezogen oder abgestoßen, eine Erscheinung, die PFEFFER als positive oder negative **Chemotaxis** bezeichnet hat.

Bezüglich der dabei in Frage kommenden Körper ist von vornherein zu erwarten, daß alle Stoffe, welche die Bakterien brauchen, **positiv** chemotaktisch, alle ihnen schädlichen **negativ** chemotaktisch wirken werden, so daß bei den ungleichen Bedürfnissen verschiedener Bakterienarten ein und derselben Stoff bald positiv, bald negativ chemotaktisch wirkt. Dies ist beispielsweise in ausgesprochenem Maße beim Sauerstoff der Fall.

Die Vermutung, daß die Ansammlung der Bakterien an der Oberfläche einer Nährlösung durch das Sauerstoffbedürfnis bedingt wird, ist zuerst von COHN (1) ausgesprochen worden, aber erst ENGELMANN (1) hat in interessanter Weise den Nachweis dafür erbracht. Ein grüner Algenfaden, unter dem Mikroskop von einem kleinen Spektrum anstatt des gewöhnlichen weißen Lichtes bestrahlt, zeigt ebenso wie bei Assimilationsversuchen im großen nur an bestimmten Stellen, namentlich zwischen *B* und *C* und dann wieder bei *F*, reichliche Assimilation und damit Sauerstoffabscheidung. Sind nun in dem umgebenden Wasser reichlich Bakterien vorhanden, so sammeln sich diese an den Stellen, wo infolge der Assimilation am reichlichsten Sauerstoff abgeschieden wird.

Nicht alle Bakterien aber suchen den Sauerstoff auf. Wir haben im Gegenteil in den obligat anaeroben Arten eine Gruppe von Organismen, welche den atmosphärischen Sauerstoff fliehen. In flüssigen Nährböden wandern sie deshalb immer nach dem Grunde des Gefäßes, wohin der atmosphärische Sauerstoff schwerer dringt als in die oberen Schichten. Obligat anaerobe und obligat aerobe Arten sind aber nicht streng geschiedene Gruppen, sondern durch zahlreiche Zwischenstufen verbunden, die in ihren Ansprüchen an den Sauerstoffgehalt des Nährsubstrates ganz verschieden sind. Für jede Bakterienart ist eine gewisse optimale (günstigste) Sauerstoffspannung vorhanden, und die Art wird in flüssigen Nährböden diejenige Stelle aufsuchen, welche der optimalen Sauerstoffspannung am besten Rechnung trägt. Auf diese Weise entstehen von verschiedenen Arten in flüssigen Nährböden oft an ganz verschiedenen

Stellen Bakterienansammlungen, wodurch oft charakteristische Bilder entstehen, die BEIJERINCK (1) mit dem Namen **Atmungsfiguren** belegt hat.

Finden die Bakterien in der Flüssigkeit keine Stelle, die ihrem Sauerstoffbedürfnis entspricht, so wird zwar die Beweglichkeit zunächst 5 gesteigert, wie ich wenigstens bei obligat anaeroben Bakterien beobachten konnte, sehr bald aber wird sie geringer und hört unter Umständen sogar ganz auf. Streng anaerobe Arten, wie der *Tetanusbacillus*, fallen dann ebenfalls in einen Starrezustand und verlieren sogar unter längerer Einwirkung des Sauerstoffs ihre Geißeln. Immer aber werden 10 die Bakterien von den Punkten fortwandern, an denen sie die ungünstigsten Verhältnisse vorfinden.

In ziemlich eingehender Weise sind die Verhältnisse der Chemotaxis von PFEFFER (1) studiert worden, der auch die Bakterien in den Kreis seiner Untersuchungen hineinzog. Er verwendete zu seinen Versuchen 15 hauptsächlich *Spirillum undula* und *Bacterium termo*. Wurde in Glaskapillaren irgend eine indifferente Flüssigkeit gesaugt und diese in den zwischen Objektträger und Deckgläschen befindlichen Tropfen bakterienhaltiger Flüssigkeit gebracht, so konnte er unter dem Mikroskop kaum eine Einwanderung von Bakterien in den Flüssigkeitstropfen beobachten. 20 Wurde aber eine 1 proz. Fleischextraktlösung oder 1 proz. Asparaginlösung in die Kapillare gebracht, so schossen die zunächst befindlichen beweglichen Bakterien sofort heran und drangen teils in die Kapillare ein, teils bildeten sie einen Kranz um die Öffnung derselben, wo sich infolge der Diffusion ebenfalls Nährstoff aus der Kapillare befand. Bei 25 weiterer Diffusion drangen die Bakterien allmählich tiefer in die Kapillare ein. *Spirillum undula* zeigte sich dabei gegen höhere Konzentration der Nährstoffe wesentlich empfindlicher als *Bacterium termo*. Wurden die Nährstoffe zu konzentriert, so übten sie eine abstoßende Wirkung aus. In einer zweiten Arbeit stellte PFEFFER (2) fest, daß unter den anorgani- 30 schen Salzen besonders die Verbindungen des Kaliums, unter den organischen Stoffen besonders das Pepton, wenig dagegen die Kohlehydrate chemotaktisch wirken. Negative Chemotaxis wird bedingt durch zu hohe Konzentration sonst positiv chemotaktisch wirkender Körper, ferner durch Alkohol, saure oder alkalische Reaktion. Von den am besten wirkenden 35 Reizmitteln genügen schon minimale Mengen zur Anlockung, dagegen steht der Reizwert eines Körpers in keinem bestimmten Verhältnis zu seinem Nährwert.

Auf Grund dieser Erscheinungen der Chemotaxis hat man wiederholt versucht, bewegliche von nicht beweglichen Arten zu trennen oder 40 auch auf Grund der ungleichen Reizempfindlichkeit gegenüber gewissen Stoffen verschiedene bewegliche Arten voneinander zu scheiden. ALI-COHEN (1) fand z. B. in dem Saft der rohen Kartoffeln ein außerordentlich energisch wirkendes Reizmittel für Cholera- und Typhusbakterien, bei denen PFEFFER mit den von ihm verwandten Stoffen eine 45 nur geringe Reizbarkeit beobachtet hatte. In der Tat würde ein derartiges Anlockungsmittel in vielen Fällen praktisch zur Trennung und Anreicherung gewisser Arten verwendbar sein, doch würde man, wie auch GABRITSCHEWSKY (1) hervorhebt, bei dieser Methodik vielfach dem Zufall anheimgegeben sein und für jede Art erst ein passendes Reiz- 50 mittel aufsuchen müssen. Auch PFEFFER hatte zur Anlockung von beweglichen Bakterien schon Gläschen verwendet, welche einige tote Würmer enthielten, mit Stramin zugebunden und dann in die betreffende Flüssigkeit gestellt waren, aus welcher die beweglichen Bakterien an-

gelockt werden sollten. Ebenso hatte R. Koch zur leichteren Isolierung der Choleravibrionen aus Fäces ein kleines Partikelchen derselben auf mit Bouillon getränkte Leinwand gebracht und diese 24 Stunden unter der Glasglocke im Brutschrank gehalten. Infolge der Beweglichkeit wanderten die Cholerabakterien von dem Fäcespartikelchen fort und fanden sich 5 dann in der Umgebung desselben, wurden also wenigstens von den unbeweglichen Bakterien auf diese Weise getrennt.

Zur Isolierung von beweglichen denitrifizierenden Bakterien benützten Gayon und Dupetit (1) eine schlangenartig gebogene Kapillare, welche oben erweitert ist und die bakterienhaltige Flüssigkeit aufnimmt, während 10 sie mit dem unteren Ende in die Nährflüssigkeit taucht. Gabritschewsky konstruierte auf Grund seiner Untersuchungen über die Schnelligkeit der Bakterienbewegung einen Apparat, der für manche Zwecke ebenfalls gute Dienste leisten mag und mit welchem es ihm auch gelang, Typhusbazillen von unbeweglichen gut zu trennen. Doch werden alle diese 15 auf die Beweglichkeit resp. Chemotaxis gegründeten Methoden stets nur für spezielle Fälle verwertbar sein.

Die **Schnelligkeit der Bewegung** ist ebenfalls von äußeren Einflüssen sehr wesentlich abhängig, insbesondere auch von der Temperatur, worüber von Fried (1) Untersuchungen existieren. Er fand z. B., daß 20 *Bacillus subtilis* bei Zimmertemperatur durchschnittlich in 91 Sekunden einen Millimeter, bei 45 ° C in 43 Sekunden einen Millimeter zurücklegt. Auch Gabritschewsky (1) hat die Beweglichkeit der Bakterien, jedoch weniger in ihrer Abhängigkeit von äußeren Reizen, untersucht.

Bei fakultativ anaeroben Bakterien tritt zu der Einwirkung des 25 Sauerstoffs auf die Schnelligkeit und Dauer der Beweglichkeit noch sehr wesentlich als hemmend oder begünstigend die Beschaffenheit des Nährbodens. So konnte Ritter (1) feststellen, daß das Vorhandensein von Zucker die Bewegungsfähigkeit solcher Bakterienarten wesentlich länger — bis 7 mal länger — erhält, als wenn Zucker fehlt. Indessen darf 30 auch hier nicht ohne weiteres dieses Resultat für alle fakultativ anaeroben Arten als gültig angenommen werden, da die einzelnen Arten, wie schon erwähnt, in bezug auf die verschiedene Intensität der Sauerstoffspannung sehr ungleich empfindlich sind.

In bezug auf das Verhältnis der Beweglichkeit zur **Lichteinwirkung** 35 fehlen genauere Angaben. Daß das Licht, namentlich direktes Sonnenlicht, viele Bakterien ungünstig beeinflußt, ist bekannt, und es ist wahrscheinlich, daß bewegliche und gegen Licht empfindliche Bakterien negativ phototaktisch sein werden. Darauf läßt mich auch eine gelegentliche Beobachtung schließen. In einer Kulturschale mit durch fluo- 40 reszierende lebhaft bewegliche Bakterien verflüssigten Gelatine, die auf einem Fensterbrett stand, hatten sich die Bakterien sämtlich auf die vordere Seite gezogen, die durch das Holz des Fensters beschattet war. Während hier die Flüssigkeit stark getrübt erschien, war sie in dem beleuchteten Teil fast klar. Ebenso sind die beweglichen roten Schwefel- 45 bakterien lichtempfindlich und sammeln sich an denjenigen Stellen des Kulturgefäßes, die ihrem Lichtbedürfnis am besten zusagen. Man beachte auch die im fünften Abschnitt enthaltenen Angaben.

§ 21. Bildung und Verlust der Geißeln.

Die Geißeln sind meist nur in gewissen **Entwicklungszuständen** 50 vorhanden, die allerdings bei den einzelnen Arten verschieden sind.

Sporen sind stets unbeweglich und geißellos, oft auch die ersten, aus der Spore schlüpfenden Zellen; erst später stellen sich Geißeln und Beweglichkeit ein. An jungen Stäbchen kann man oft durch keinerlei Färbungsverfahren Geißeln sichtbar machen, während sie an etwas
5 älteren deutlich wahrnehmbar werden, sie bilden sich also erst im Lauf der Entwicklung der Stäbchen.

Nach Zopf (1) sollen die Geißeln aus polaren Poren der Membran plötzlich hervorbrechen, weil, wie er an Schwärmzellen von *Cladothrix dichotoma* beobachtete, erst im Moment der Loslösung vom Faden sich
10 polare Strudel bemerkbar machten. Polare Geißeln aber können sich doch erst nach der Loslösung von dem Faden entwickeln. Durch die Beobachtung Fischer's (1), daß die Geißeln der *Cladothrix*-Schwärmer sich seitlich entwickeln, ist dieser Grund für die plötzliche Entstehung der Geißeln hinfällig geworden. Fischer hat an *Spirillum undula* und
15 *Bacillus subtilis* Untersuchungen über die Entstehung der Geißeln angestellt. Bei ersterer Art sind an den halbkreisförmigen Zellen nur an einem Pol Geißeln vorhanden, an dem anderen entstehen erst vor der Teilung Geißeln, die als kurze Fädchen hervorsprossen und zwar rasch aber doch nicht plötzlich ihre definitive Länge erreichen. Man findet
20 nämlich an den in verschiedenen Stadien der Teilung befindlichen Spirillen auch ganz ungleiche Entwicklungsstadien der Geißeln. Die Entwicklung der Geißeln soll 10—15 Minuten in Anspruch nehmen. Bei *Bacillus subtilis* entstehen die Geißeln bei 30° erst etwa 6—7 Stunden nach dem Beginn der Sporenkeimung. Sie sind in ihren jüngsten Zu-
25 ständen als ganz feiner gestrichelter Hof um das Stäbchen — natürlich nur in entsprechend gefärbten Präparaten — zu erkennen, späterhin bilden sie äußerst feine zarte Fäden, die nach kurzer Zeit die normale Länge und Dicke der Geißeln erreichen. Bei der Teilung der Stäbchen schieben sich wahrscheinlich neue zwischen die alten ein.

30 Für einige von mir wiederholt untersuchte Stäbchenbakterien möchte ich annehmen, daß die Bildung der Geißeln von ihrem ersten Auftreten bis zur normalen Größe nur sehr kurze Zeit, jedenfalls weniger als 10 bis 15 Minuten in Anspruch nimmt. Man findet nämlich in lebhaft sich teilenden Kulturen von *Bacillus subtilis* oder *B. megaterium* nur ganz
35 selten Formen, die man als solche Jugendzustände von Geißeln deuten könnte. Beide Arten haben aber wenig Geißeln und man würde deshalb die jüngeren und zarteren ganz gut zwischen den älteren herausfinden können, wenn sie einen längeren Zeitraum zu ihrer Entwicklung brauchten.

40 Ein Teil der Bakterien bildet, wie es scheint, niemals Geißeln und bleibt stets unbeweglich, wenn sich auch die Zahl der geißeltragenden Bakterien nach den Untersuchungen von Ellis (1, 2) noch wesentlich vermehren dürfte. Es ist nämlich längst bekannt, daß sicher bewegliche Bakterienarten unter gewissen Kulturbedingungen zwar recht gut ge-
45 deihen können, dabei aber ihre Beweglichkeit mehr und mehr verlieren und schließlich ganz unbeweglich werden. Manchmal werden zwar auch in Kulturen, die durchaus keine beweglichen Zellen mehr zeigen, noch die Geißeln ausgebildet und lassen sich durch Färbemethoden sichtbar machen, in vielen Fällen unterbleibt aber auch jede Ausbildung der
50 Geißeln. Die Bedingungen unter denen die Bildung von Geißeln und die Beweglichkeit der Bakterien eintritt, sind bei den einzelnen Arten außerordentlich verschieden. Es gibt manche, z. B. die meisten fluoreszierenden Wasserbakterien, die in Kulturen fast immer beweglich bleiben

und auch nach vielen Jahren fast gleiche Beweglichkeit behalten. Andere dagegen, wie die meisten beweglichen Coccaceen, büßen in Kulturen ihre Bewegungsfähigkeit sehr bald ein und lassen sich auch meist schwer wieder dazu bringen. Die Ursachen dieser Erscheinung sind unbekannt und es liegen nur einige durch Erfahrung gewonnene Tatsachen vor, 5 die vielleicht später einmal zur Lösung dieser Frage dienen können.

Es scheint, daß die fortgesetzte **Züchtung auf festen Nährböden** bei vielen Arten die Bildung der Geißeln mit der Zeit weit mehr beeinträchtigt, als die Kultur in flüssigen Nährböden. In einem im Jahre 1899 mit einem sehr beweglich gewordenen *Micrococcus agilis* ALI-COHEN 10 (*Planococcus agilis*) angestellten Versuche zeigte sich, daß derselbe nach 7 Übertragungen auf Agar in Zeiträumen von je 14 Tagen fast völlig unbeweglich geworden war; unter vielen Hunderten von Zellen sah man nur 1—2 bewegliche. In Heuinfus mit gleichen Teilen Bouillon konnte noch nach 18 Übertragungen, in gleichen Zwischenräumen abgeimpft, 15 fast dieselbe Beweglichkeit festgestellt werden, als bei der Stammkultur. Aber außer diesen leichter zu konstatierenden Ursachen spielen noch andere Verhältnisse dabei eine Rolle, die weniger leicht klar zu stellen sind. Von dem gleichen Cholerastamm erhält man manchmal auf Agar sehr lebhaft bewegliche, das andere Mal fast unbewegliche Kulturen; 20 vielleicht genügen bestimmte kleine Differenzen in der Herstellung des Nährbodens schon, um die Beweglichkeit so wesentlich zu beeinflussen.

Zweifellos ist ferner, daß ein und dieselbe Bakterienart in sehr verschieden beweglichen Stämmen auftreten kann. Diese Stämme sind allerdings meist erst in der Kultur entstanden und als solche Kultur- 25 produkte mehr oder weniger anormal hinsichtlich der Begeißelung. Aber es gibt doch auch Unterschiede bei frisch aus ihrem natürlichen Nährboden isolierten Bakterien; man hat z. B. den Bazillus der blauen Milch wiederholt aus Milch gezüchtet und ihn bald sehr lebhaft bald nur träge beweglich unter sonst gleichen Umständen gefunden. Diese verschiedene 30 Beweglichkeit bei verschiedenen Kulturstämmen derselben Art erklärt auch manche Widersprüche in der Literatur. So habe ich bei *Bacillus prodigiosus*, den ich in verschiedenen Stämmen lange Zeit beobachtet habe, gefunden, daß er bei Zimmertemperatur meist gar nicht, bei Blutwärme meist lebhaft beweglich war, während MATZUSCHITA (1) ihn bei 35 20° C lebhaft, bei 37° C nicht beweglich fand.

Sehr groß ist die **individuelle Verschiedenheit** in bezug auf Beweglichkeit. Wohl in jeder Kultur kommen neben beweglichen auch unbewegliche Zellen vor und zwar in sehr wechselndem Maße. Selbst wenn man von Kolonien auf Platten ausgeht, die doch jedenfalls zum 40 größten Teil von einer Zelle ihren Ursprung genommen haben, hat sich schon eine bedeutende Verschiedenheit in der Beweglichkeit der Individuen eingestellt, und auch in Geißelpräparaten findet man zumeist neben geißeltragenden auch mehr oder weniger reichlich geißellose Zellen. Der Gedanke liegt nahe, durch fortlaufende Auslese und Ab- 45 impfung derjenigen Kolonien, in denen sich die lebhafteste Beweglichkeit zeigt, aus einem schwach beweglichen Stamm sich einen lebhaft beweglichen herauszuzüchten. Der Versuch ist mir aber bei *Micrococcus agilis* mißlungen, weil selbst bei wiederholten Aussaaten sich immer gleichmäßig wenige bewegliche Zellen neben zahlreichen unbeweglichen in 50 jeder Kolonie fanden. Nichtsdestoweniger ist es wohl möglich, daß bei anderen Arten sich das Verfahren doch bewähren mag.

Um eine lebhaftere Beweglichkeit von wenig beweglichen Bakterien

zu erzielen, ist oft ein Wechsel des Nährbodens genügend. So zeigte sich mir als ein wirksames Mittel, einen jahrelang auf Nähragar gezüchteten sehr wenig beweglichen *Proteus vulgaris* zu lebhafter Beweglichkeit zu bringen, die Überimpfung in eine Abkochung von Erbsen. Ellis (1, 2) konnte durch fortgesetzte sehr frühzeitig unternommene Uebertragungen bezüglich der Geißelbildung ausgezeichnete Erfolge konstatieren und Geißeln auch bei einer Anzahl Coccaceen wahrnehmen, bei denen sie bisher nicht beobachtet waren. Es ist sehr wohl möglich, daß bei weiterer Verfolgung dieser Untersuchungen die Zahl der geißeltragenden Arten sich sehr wesentlich erhöhen wird. Gerade bei den beweglichen Coccaceen wird es jedem, der sich längere Zeit mit ihrer Untersuchung beschäftigt hat, aufgefallen sein, daß sie in Kultur auf festen Nährböden oft bald ihre Beweglichkeit einbüßen; sie können dann Jahre hindurch als unbewegliche und geißellose Stämme fortgezüchtet werden.

Die Beweglichkeit ist im allgemeinen in jungen Kulturen am lebhaftesten und auch die Geißeln sind dann an den einzelnen Individuen am schönsten und vollständigsten entwickelt. Je älter die Kultur wird, desto mehr machen sich allerlei ungünstige Einflüsse geltend, insbesondere die Anhäufung der eigenen **Stoffwechselprodukte** und **Erschöpfung** an Nährstoffen. Diesen ungünstigen Einflüssen scheinen die so außerordentlich empfindlichen Geißeln sehr leicht zum Opfer zu fallen, die Beweglichkeit nimmt mit zunehmendem Alter der Kultur mehr und mehr ab und auch die Zahl der Geißeln an den einzelnen Individuen wird geringer. Das letztere wird freilich zumeist darauf zurückzuführen sein, daß die eng zusammengedrängten Bakterien sich häufig mit ihren Geißeln verwickeln und bei lebhafter Bewegung dieselben abreißen. Man findet solche abgerissene Geißeln oft massenhaft in den Präparaten. Indessen werden die Geißeln bei Eintritt ungünstiger Verhältnisse sehr leicht abgeworfen, wie Fischer (1) feststellte, oder sie rollen sich in eigentümlicher Weise zusammen und zerfließen. Dann entsteht oft eine Schleimhülle um die Zellen, die ihr ursprünglich nicht eigen ist und vielfach zu der Annahme einer Kapsel Veranlassung gegeben hat, so bei Babes (4). Namentlich leicht kommt es auch zu einem Abwerfen und Verquellen der Geißeln beim Anfertigen von Geißelpräparaten, ohne daß in jedem Falle eine genügende Erklärung dafür angegeben werden könnte. Ebenso können aber auch die abgeworfenen Geißeln bei Eintritt günstigerer Verhältnisse bald wieder ersetzt werden.

Mit dem leichten Abwerfen resp. Abreißen der Geißeln hängt auch eine eigentümliche Erscheinung zusammen, die zuerst von Löffler (1) beim Rauschbrandbazillus beobachtet wurde, nämlich die Bildung von **Geißelzöpfen.** Es sind dies oft außerordentlich dicke und lange scheinbar zopfig verflochtene Geißelmassen, die entweder noch einem Stäbchen anhängen, oder, was meist der Fall ist, ohne Verbindung mit den lebenden Zellen sind. Ihr Zustandekommen ist wohl so zu erklären, daß sich einzelne lebhaft schlagende Geißeln benachbarter Stäbchen miteinander verwickeln und von dem einen Stäbchen losgerissen werden; je nachdem sich dieser Vorgang öfter oder seltener wiederholt, werden die Zöpfe dicker oder dünner ausfallen. Dazu kommt noch, daß die in allen Kulturen vorhandenen losgerissenen Geißeln sich wahrscheinlich leicht solchen Zöpfen anschließen werden und ihren Durchmesser verstärken helfen. Merkwürdigerweise scheinen einige Arten ganz besonders zur Bildung solcher Geißelzöpfe disponiert zu sein, so der schon erwähnte

Rauschbrandbazillus, sowie ein von SAKHAROFF (1) als *Bacillus asiaticus* beschriebener Organismus. Bei keiner anderen der von mir untersuchten Arten finden sich namentlich so schöne und große Geißelzöpfe, als beim Rauschbrandbazillus.

Bei der Beurteilung der Beweglichkeit oder Unbeweglichkeit von Bakterien ist auch darauf Rücksicht zu nehmen, daß schon sehr geringe Veränderungen in den äußeren Bedingungen einen zeitweiligen Stillstand der Bewegung herbeiführen können. Eine Geißelstarre kann schon dadurch erfolgen, daß man die Kultur aus dem Thermostaten nimmt und nun die Bakterien bei Zimmertemperatur untersucht; sie erscheinen dann mitunter unbeweglich. Läßt man die Kultur aber eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen und untersucht dann wieder, so zeigen sie sich beweglich, die Geißelstarre hat unter der allmählichen Gewöhnung an die neue Temperatur nachgelassen. Noch heftiger, selbst bis zum **Abwerfen der Geißeln** wirkt oft die Uebertragung von Bakterien aus konzentrierten Nährböden in gewöhnliches oder gar destilliertes Wasser; letzteres sollte bei Untersuchungen auf Beweglichkeit überhaupt stets vermieden werden. Uebrigens sind die einzelnen Arten und selbst dieselbe Art zu verschiedenen Zeiten sehr ungleich empfindlich, das eine Mal dauert die Bewegung fast ungeschwächt fort, während sie ein anderes Mal fast momentan vollkommen aufhört. Beim Uebertragen in Wasser aus konzentrierten Nährböden wird die zu große osmotische Spannung die Ursache der Geißelstarre sein und diese wird naturgemäß nach den Nährböden, nach Alter und Ernährungszustand der Zellen sehr verschieden wirken.

§ 22. Brauchbarkeit der Unterschiede in der Begeißelung als Merkmale für die Systematik.

Bei der geringen Zahl morphologischer Charaktere, die uns für die Einteilung und Unterscheidung der Bakterien zu Gebote stehen, ist es für den Systematiker selbstverständlich, daß die Begeißelung in dieser Hinsicht eine große Bedeutung beansprucht. Es sind Unterschiede in der Zahl, Stellung und Beschaffenheit der entsprechenden Bewegungsorgane bei benachbarten Gruppen niederer Organismen, z. B. den Protozoen längst als systematische Merkmale von hoher Bedeutung anerkannt, und von Zoologen und Botanikern wird die Uebertragung ähnlicher Anwendung auf die Systematik der Bakterien kaum Widerspruch erfahren. In den Kreisen von Chemikern und namentlich Medizinern wird der Art der Begeißelung aber eine entscheidende Bedeutung als systematisches Merkmal sehr oft nicht zuerkannt.

Die Frage, ob die Begeißelung als hervorragendes systematisches Merkmal, besonders zur Abgrenzung von Gattungen, benützt werden darf oder nicht, ist hauptsächlich nur deshalb aufgeworfen worden, weil von verschiedenen Bakteriologen der Charakter der Begeißelung für unbeständig gehalten wird. Und zwar sollen bald bewegliche Arten unbeweglich werden können, bald umgekehrt unbewegliche beweglich und, was allerdings die Bedeutung der Begeißelung als Gattungscharakter unbrauchbar machen würde, es sollen auch mit polaren Geißeln begabte Bakterien in diffus begeißelte Formen übergehen können.

Die letztere Annahme ist allerdings niemals sicher begründet worden. Nur LEHMANN und NEUMANN (1) führen einen Fall an, der die Möglich-

keit eines Ueberganges von polar begeißelten zu peritrich begeißelten Zellen einer Art zuließe, wenn diese Beobachtung durch eine genauere Untersuchung gestützt wäre. Sie führen nämlich bei *Bacillus violaceus* (p. 262) an: „Die Geißeln wurden von uns bald peritrich (3—4 lange, 5 geschlängelte), bald polar (1—2) gefunden.“ Nach einer Angabe derselben Forscher in der ersten Auflage des zitierten Werkes ist aber die Annahme begründet, daß es sich um verschiedene Kulturen und damit wahrscheinlich um verschiedene Arten gehandelt hat. Aber selbst wenn sich die Beobachtungen auf ein und dieselbe Kultur 10 beziehen sollten, so ist eine Täuschung infolge von losgerissenen und zufällig an manche Stäbchen an den Seiten angeklebte Geißeln nicht ausgeschlossen, Dinge, die man bei reichlicher Beschäftigung mit Geißeln nicht gerade selten zu sehen bekommt. Ich habe den *Bacillus violaceus* während eines Zeitraumes von mehr als 10 Jahren sehr oft 15 auf seine Geißeln untersucht und über 100 Geißelpräparate von verschiedenen Stämmen gemacht, aber nie eine andere, als polare Begeißelung wahrgenommen. Ich kann mich deshalb, auch bei nochmaliger wiederholter Untersuchung nicht davon überzeugen, daß bei diesem Organismus bald polare bald peritriche Begeißelung vorkommt, wohl aber 20 halte ich es für möglich, daß eine ähnliche, violetten Farbstoff produzierende Art mit peritricher Begeißelung existiert.

Der zweite Punkt, daß bewegliche Formen in unbewegliche, oder umgekehrt, übergehen können, erscheint zurzeit durch eine Anzahl interessanter Untersuchungen in einer Beleuchtung, die scheinbar zugunsten 25 der Gegner einer Verwendung der Geißelmerkmale für die Systematik spricht. Ich selbst (1) habe für einige Arten Beweglichkeit resp. Unbeweglichkeit gefunden, von denen früher das Gegenteil angegeben war. Lehmann und Neumann (1) führen dann für *Micrococcus agilis* und *M. citreus agilis* an, daß sie in ihren Kulturen unbeweglich geworden seien. 30 Zierler (1) findet, daß der als unbeweglich beschriebene *Bacillus implexus* beweglich sei und Lehmann (1) folgert daraus, daß hierdurch zum erstenmal ein einwandsfreier Beweis für die Umwandlung einer unbeweglichen Art in eine bewegliche geführt sei. Ellis (1, 2) endlich vermochte durch entsprechende Nährböden und häufige Umimpfung für 35 sämtliche von ihm untersuchte Coccaceen den Beweis zu erbringen, daß sie Beweglichkeit und Geißeln erlangen könnten.

Die Möglichkeit aber, daß bewegliche Arten zeitweise unbeweglich sein können, ist nie bestritten worden, und daß dieser Fall in Kulturen leider sehr häufig eintritt, habe ich (1) wiederholt hervorgehoben. Wir 40 kennen die Bedingungen, welche für die Beweglichkeit und Geißelbildung besonders günstig sind, noch durchaus nicht, zumal dieselben für die einzelnen Arten sicher verschieden sind. Aber am wenigsten dürfen wir erwarten, daß diese Bedingungen in unseren künstlichen Kulturen gegeben sind, die doch so sehr von den natürlichen Lebensverhältnissen 45 der Bakterien abweichen. Es kommen eine große Menge Pflanzen in unseren Gewächshäusern nie zur Blüte, trotz üppigsten Wachstums, weil die Bedingungen für die Blütenbildung ungünstig sind, niemand wird ihnen aber deshalb die Fähigkeit, unter anderen Verhältnissen Blüten zu bilden, absprechen wollen. Aber es wäre etwas anderes, wenn 50 ihnen die Fähigkeit Blüten zu bilden unter allen Bedingungen mangeln würde.

Auch in unseren Reagensglaskulturen werden wahrscheinlich unter den gewöhnlichen Verhältnissen viele Arten nicht zur Geißelbildung

kommen, die unter natürlichen Lebensbedingungen Geißeln bilden und beweglich sind. Es wird sich nach den Untersuchungen von Ellis die Grenze zwischen beweglichen und unbeweglichen Bakterien sehr verschieben, ja es wäre der Fall denkbar, daß allen Bakterien unter gewissen Bedingungen Beweglichkeit zukommt, wenn dies auch nicht gerade wahrscheinlich ist. Wenn man aber Beweglichkeit bei einem bisher für unbeweglich gehaltenen Bakterium entdeckt, so ist das kein unzweifelhafter Beweis für die Umwandlung einer unbeweglichen Art in eine bewegliche, sondern es ist einfach die Beobachtung einer bis dahin nicht wahrgenommenen Eigenschaft der betreffenden Art, die dadurch unter Umständen eine richtigere Stellung im System erhält. Daß solche Verschiebungen wahrscheinlich noch vielfach eintreten werden, ist zu erwarten, weil unsere Kenntnis der Naturgeschichte der Bakterien noch viel zu lückenhaft ist. Ein morphologisches Merkmal aber da zu verwerfen, wo uns überhaupt nur so wenige geboten sind, weil wir über dieses Merkmal noch nicht bei allen Arten Gewißheit haben, erscheint vom Standpunkte des Systematikers aus nicht gerechtfertigt.

Als einen sehr häufig angeführten Grund gegen die Benutzung der Geißelmerkmale zur Einteilung der Bakterien findet man in der (namentlich medizinischen) Literatur den, daß die Bestimmung der Begeißelung zu umständlich und schwierig und deshalb das Merkmal unpraktisch sei. — Wenn es sich um Bestimmungstabellen zum leichten Auffinden einer Spezies handelt, sog. systematische Eselsbrücken, so ist dieser Einwand zweifellos berechtigt, denn die Herstellung guter Geißelpräparate ist unter Umständen mit Schwierigkeiten auch für den Geübten verknüpft. Nie aber darf die Schwierigkeit der Feststellung eines Merkmals die Würdigung seines Wertes in systematischer Hinsicht beeinflussen. Die Organismen haben bei ihrer philogenetischen Entwicklung jedenfalls keine Rücksicht darauf genommen, ob die Merkmale ihrer Verwandtschaft oder Verschiedenheit für den Menschen leicht oder schwer zu entziffern sind.

Literatur

zum Kapitel Eigenbewegung der Bakterien.

*__Ali-Cohen,__ (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. VIII, S. 161. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. VI. *__de Bary,__ (1) Vorlesungen über Bakterien, 1887, II. Aufl. *__Babes,__ V., (1) Z. f. Hyg., **1895**, Bd. XX, S. 412. *__Beijerinck,__ M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. XIV, S. 827. *__Bütschli,__ (1) Archiv für Protistenkunde, 1902, Bd. I, S. 41. *__Bunge,__ R., (1) Fortschr. d. Med., 1894, Bd. XII, und: ebenda Nr. 17 u. Nr. 24. *__Cohn,__ F., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1872, Bd. I, H. 2. *__Dallinger__ u. **Drysdale,** (1) The monthly mikrosc. Journal, 1875, Sept. 1. *__Ehrenberg,__ (1) Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen, 1838. *__Ellis,__ D., (1) Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 33, Orig., S. 1. — (2) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. IX, S. 546. *__Engelmann,__ Bot. Ztg., 1881. Ferner Pflüger's Archiv, Bd. XXX. Bot. Ztg., Bd. 39. *__Ermengem, van,__ (1) Trav. du Laborat. d'Hygiene et de Bactér. de l'Univers. de Gand, 1893, T. 1. *__Fischer,__ Alfred, (1) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. XXVII, S. 1. — (2) Ebenda. Bd. 26, S. 187. — (3) Ber. d. Königl. Ges. d. Wissensch. Math.-phys. Kl. 1891, 2. März, Leipzig. — (4) Vorlesungen über Bakterien, 1903, II. Aufl., Jena. — (5) Z. f. Hyg., Bd. 33, S. 1. *__Fried,__ E., (1) Biologische Studien über die Eigenbewegung der Bakterien, 1892, Inaug.-Diss., Würzburg. *__Gabritschewsky,__ (1) Z. f. Hyg., Bd. 35, S. 104. *__Gayon__ u. **Dupetit,** (1) zitiert nach **Gabritschewsky** (1). *__Hinterberger,__ Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 30, S. 417. *__Hueppe,__ (1) Die Formen der Bakterien, 1886, Wiesbaden. *__Koch,__ R., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1877, Bd. II, H. 3. *__Kuenstler,__ (1) Bull. soc. zool. de France, 1882, Bd. VII, S. 20. *__Leeuwenhoek,__ (1) Briefe an die Royal Society London, 1683. *__Lehmann,__ R. B., (1) Arch. f. Hyg., Bd. XXXIV, S. 198. *__Lehmann__ u. **Neumann,** (1) Atlas und Grundriß der Bakteriologie, 1899, II. Aufl. *__Löffler,__ (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 7, Nr. 20. *__Matzuschita,__ T., (1)

Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. VII, S. 209. ***Meyer**, Arthur, (1) Centralbl. f. Bakt., Originale, Bd. 31, S. 737. — (2) Practicum der botanischen Bakterienkunde, 1903, Jena. ***Migula**, (1) System der Bakterien, 1897, I. Bd. ***Nägeli**, (1) Gattungen einzelliger Algen. ***Neuhaus**, (1) Centralbl. f. Bakt, Bd. V, S. 81. ***Pfeffer**, (1) Unters. a. d. bot. Inst. zu Würzburg, Bd. I, S. 363. — (2) Unters. a. d. bot. Inst. zu Würzburg, 1887, Bd. II, S. 582. ***Remy** u. **Sugg**, (1) Labor. d'Hyg. et de Bact. de l'Univers. de Gand, 1893, T. I. ***Ritter**, (1) Flora, 1899, Bd. 86, S. 329. ***Sakharoff**, M. N., (1) Ann. Pasteur, 1893, VII, S. 550. ***Trenkmann**, (1) Centralbl. f. Bakt., Bd. VI, S. 433 u. VIII, S. 385. ***van Tieghem**, (1) Bull. de la soc. bot. de France, 1879, T. 26, S. 37. ***Warming**, (1) Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bacterier, 1876, Kjöbenhavn. ***Winogradsky**, (1) Beiträge zur Morphologie und Biologie der Bakterien, 1888, H. 1. ***Zettnow**, (1) Centralbl f. Bakt., 1891, Bd. X, S. 669. ***Zierler**, F., (1) Arch. f. Hyg., 1899, Bd. 34, S. 192. ***Zopf**, (1) Spaltpilze, 1885, III. Aufl.

(*Manuskript-Einlauf: 19. Febr. 1904.*)

4. Kapitel.

Vegetative Vermehrung der Bakterien.

§ 23. Wachstum und Teilung der Zellen bei den Bakterien.

Die vegetative Vermehrung der Bakterien geschieht ausschließlich durch Zellteilung, die unter günstigen Bedingungen sehr rasch aufeinander folgen und daher sehr ergiebig sein können.

Im allgemeinen scheint der Teilungsprozeß bei den Bakterien in sehr einfacher Weise zu erfolgen, doch sind sicher gewisse Verschiedenheiten vorhanden, die teils sich nur auf einzelne Arten beziehen, teils aber für ganze Gattungen oder Familien charakteristisch sind.

Die **äußeren Erscheinungen** bei Wachstum und Teilung der Zellen lassen sich bei großen Stäbchenbakterien ohne Schwierigkeiten verfolgen. Die Stäbchen verlängern sich und man sieht dann in der Mitte eine zartere hellere Linie auftreten, welche sich zunächst schwerer färben läßt, als die älteren Membranen, doch aber als die junge noch sehr zarte Scheidewand zu deuten ist. Bei genauerer Untersuchung lassen sich an günstigen Objekten auch über die inneren Vorgänge einige Einzelheiten erkennen.

Der von mir genauer in bezug auf Zellteilung untersuchte *Bacillus oxalaticus* bildet in jungen Kulturen bald nach dem Ausschlüpfen aus der Spore 3—4 μ dicke und 6—8 μ lange Stäbchen, deren Inhalt fast homogen ist. Wenn sich die Zelle etwas streckt, tritt fast genau in der Mitte ein matter, schwächer lichtbrechender Fleck auf, der bei weiterem Wachstum der Zelle größer und deutlicher wird und sich als zentraler Zellsaftraum erkennen läßt. Das ursprünglich das Stäbchen scheinbar gleichmäßig erfüllende Protoplasma ist zu einem mehr oder weniger dicken plasmatischen Wandbelag geworden, in welchem auch die früher besprochenen Körnchen auftreten. Sind die Zellen etwa doppelt so lang geworden, als vor dem ersten Auftreten der Vakuole, so sieht man das Plasma in der Mitte der Zelle sich nach dem Innern der Zelle vorwölben und einen ringförmigen Wulst bilden, der allmählich immer weiter nach innen zu sich erhebt, bis schließlich eine geschlossene Plasmascheibe die Vakuole in zwei Teile teilt.

Je nach der Schnelligkeit des Wachstums und der Teilungen treten,

noch ehe die Plasmascheibe sich geschlossen hat, neue ringförmige Wülste an anderen Stellen der Zelle auf, so daß man in einem langen Stäbchen oft 3—6 in verschiedenen Stadien der Entwicklung findet. Einige Zeit nach der Bildung der Plasmascheibe scheint sich die Membran ringförmig in die Scheibe vorzuwölben; man beobachtet nämlich an den beiden Seiten stärker lichtbrechende, hellere Wülste, die sich ebenfalls langsam nach der Mitte zu vorschieben und allmählich zusammenstoßen, so eine feine hellere Linie in der Mitte der Plasmascheibe bildend. Diese zarte helle Linie stellt die junge Membran dar, die sich anfangs nur sehr schwierig färben läßt und in gefärbten Präparaten überhaupt meist verschwindet. Allmählich wird sie dicker und deutlicher und dann findet auch meist an den Seiten eine leichte Einschnürung statt, die die beginnende Trennung der Stäbchen andeutet. Auch diese Bildung der Scheidewände läßt sich innerhalb eines Stäbchens oft in sehr verschiedenen Stadien verfolgen, so daß also ein längeres Stäbchen meist gleichzeitig verschiedene Stadien der Zellteilung zeigt [MIGULA (1)].

Bei *Bacillus Bütschlii* beschreibt SCHAUDINN (1) die Zellteilung in etwas abweichender Weise. Er fand zunächst, daß in der Teilungsebene zuerst ein größeres stark lichtbrechendes Körnchen auftritt, welches er für eine Verdichtung der Zellsubstanz hält. Dasselbe verbreitert sich nach und nach zu einer senkrecht auf der Längsachse der Zelle stehenden Scheibe, die allmählich, gleichzeitig dicker werdend, bis an die Zellmembran heranreicht. Dann tritt zunächst in der Mitte der Platte ein hellerer, allmählich bis zur Peripherie sich ausdehnender Spaltraum auf, schließlich spaltet sich auch die Membran der Längswände, womit die Teilung beendet ist. Nach der Teilung bleiben die Tochterzellen noch kürzere oder längere Zeit vereinigt, trennen sich schließlich, wobei die Enden, an denen die letzte Teilung stattgefunden hat, noch eine Zeit lang schwächer gewölbt und stärker lichtbrechend erscheinen, als die anderen. Wahrscheinlich in ziemlich ähnlicher Weise wie bei *Bacillus oxalaticus* wird sich der Teilungsprozeß bei *Bacillus sporonema* abspielen, nur daß SCHAUDINN (2) bei der Kleinheit des Objektes die zarte Teilungswand nicht wahrnahm. Gegen eine Durchschnürung, wie SCHAUDINN sie anzunehmen geneigt ist, sprechen seine eigenen Abbildungen.

Mit gewissen Abweichungen sind die Zellteilungen bei anderen Bakterien beschrieben worden, so von A. MEYER (1) bei *Bacillus asterosporus*, von BREFELD (1) bei *Bacillus subtilis*. Anders dagegen beschreibt ELLIS (1) die Teilung von *Spirillum giganteum*, indem er angibt, daß anscheinend nur eine Abschnürung, keine Bildung einer Teilungswand erfolge. Dagegen bildet er in *Fig. 25* selbst eine sehr deutliche Scheidewand ab. Allerdings hat bei sehr vielen Bakterien, namentlich bei vielen Spirillen und Vibrionen *(Microspira)*, der Vorgang der Zellteilung eine gewisse Ähnlichkeit mit einer Abschnürung, besonders wenn man nur gefärbte Präparate untersucht, in denen die zarte Scheidewand vielfach ganz verschwindet. Sie ist gerade bei den Spirillen oft so außerordentlich zart, daß sie nur bei günstigstem Licht und den stärksten Vergrößerungen gut zu sehen ist; manchmal, namentlich wenn die Zellen nicht genau senkrecht zur Achse des Mikroskopes liegen, ist jede Mühe, eine Scheidewand zu entdecken, vergeblich. Dann kommt man allerdings zu der Ansicht, daß keine Scheidewandbildung, sondern nur eine einfache Abschnürung stattfindet, wie ich selbst ursprünglich bei den Spirillen glaubte beobachtet zu haben. Aber als ich erst einige Male die Scheidewände gesehen hatte und mein Vermögen, diese zarten Ge-

bilde zu erkennen, gewachsen war, mußte ich diese Ansicht aufgeben. Auch bei den Schraubenbakterien geht die Bildung einer Scheidewand der Abschnürung voraus. Freilich ist die weitere Entwicklung insofern etwas verschieden, als eine Einschnürung an der Teilungsstelle und eine 5 Abrundung der Enden sehr frühzeitig erfolgt, während sich gleichzeitig die Membran entsprechend verdickt und nur an dem noch zusammenhängenden Teil dünn und schwach sichtbar bleibt. Dieses mit der Einschnürung Hand in Hand gehende Dickerwerden der Membran hängt wahrscheinlich teilweise damit zusammen, daß ihre äußeren Schichten, 10 sobald sie sich trennen und mit der umgebenden Flüssigkeit in Berührung kommen, erheblich aufquellen.

Bütschlis (1) Beobachtung der Teilung von *Chromatium Okenii* wird von seiner Vorstellung über den Bau dieses Organismus, bei welchem er ebenfalls Zentralkörper, Rindenschicht und Membran annimmt, beein-15 flußt. Zuerst bildet sich nach ihm ein sehr feiner ringförmiger Wulst in der Teilungsebene dicht unter der Membran in der Rindenschicht (nach meiner Auffassung der plasmatische Wandbelag). Dieser Ring dehnt sich allmählich bis zu dem Zentralkörper — der wohl als zentraler Zellsaftraum anzusprechen ist — aus, während gleichzeitig eine 20 ringförmige Einschnürung der Zellmembran erfolgt. Mit dem Weiterschreiten der äußeren Einschnürung beginnt auch eine Einschnürung des Zentralkörpers, während der Ring immer weiter vordringt und schließlich eine geschlossene Scheibe bildet.

Bei kleineren Bakterienarten lassen sich Einzelheiten über die Tei-25 lungsvorgänge kaum angeben, da die Verfolgung der Zellteilung schon an großen Arten zu den schwierigsten mikroskopischen Aufgaben gehört.

Die **Teilungsrichtung** ist bei den Bakterien im allgemeinen sehr konstant. Bei den Coccaceen kann sie nach 1, 2 oder 3 Richtungen des Raumes erfolgen, bei allen übrigen erfolgt die Teilung senkrecht zur 30 Längsrichtung der Zelle. Vielleicht gibt es davon ganz vereinzelte Ausnahmen, doch stammen gegenteilige Angaben noch zumeist aus einer Zeit, in welcher eine strenge Isolierung und gesonderte Beobachtung einzelner Arten noch nicht möglich war und wo Fehler in dieser Richtung hin begreiflicherweise sehr leicht unterlaufen konnten. Oft wird 35 es sich um eine Vermischung verschiedener Organismen gehandelt haben, die dann für eine Art mit ganz abweichenden Eigenschaften gehalten wurden. So beschreibt Zopf (1) ein *Bacterium merismopedioides*, welches zuerst sich nach einer Richtung des Raumes teilt und Fäden von wechselnder Länge und Dicke bildet; später aber zerfallen die Stäbchen in 40 kokkenartige Glieder und diese sollen sich dann nach zwei Richtungen des Raumes teilen. Bei *Lamprocystis* beobachtete Winogradsky (1), daß zuerst eine Teilung nach drei, später nur nach zwei Richtungen des Raumes stattfindet.

Bei allen Stäbchen- und Schraubenbakterien findet vor der Zell-45 teilung eine **Streckung** in der Längsrichtung statt. Bei den Coccaceen dagegen teilt sich die Zelle erst, ehe sie sich zur Streckung anschickt. Man kann dies namentlich an großen Kokken deutlich erkennen, am besten bei *Micrococcus phosphoreus*, wenn die Zellen ungefärbt oder nur ganz schwach gefärbt untersucht werden. Die völlig kugeligen Zellen 50 zeigen schon oft die zarte Scheidewand. Erst nach dem Auftreten derselben beginnen sich die Zellen senkrecht zur Teilungswand etwas zu strecken, während sich gleichzeitig eine Einschnürung am Rande bemerklich macht, welche um so weiter vordringt, je mehr sich die beiden

Tochterzellen abrunden. Bei lebenden Zellen dieses Organismus kann man mitunter mehrere Teilungen hintereinander verfolgen. Liegen die Zellen fest in Gelatine oder Nähragar eingebettet, so beobachtet man, daß die zweite Teilungswand senkrecht zu der ersten steht, die dritte wieder parallel zur ersten usf., der *Micrococcus phosphoreus* teilt sich also nach zwei Richtungen des Raumes. Aehnlich lassen sich auch bei anderen großen Mikrokokken die Teilungswände in den noch völlig runden Zellen beobachten. Auch bei verschiedenen *Sarcina*-Arten findet eine Streckung vor der Teilung nicht statt; hier erfolgt die Teilung aber in drei aufeinander senkrechten Richtungen des Raumes. Die Teilungen lassen sich am besten bei Arten beobachten, die nach der Teilung sich rasch lösen und keine Pakete bilden, was bei sehr vielen Arten auf festen Nährböden der Fall ist, z. B. bei *Sarcina aurantiaca*. Bilden die Zellen Pakete, so kommt es oft zu einer eigentümlichen Erscheinung. Es bilden sich Scheidewände nach der zweiten resp. dritten Richtung, noch ehe eine Trennung der Zellen, resp. eine Einschnürung an den Stellen der Membran, an denen die Teilungswand sie berührt, erfolgt ist; die Zelle sieht dann aus, als ob ein Kreuz hineingezeichnet wäre. Übrigens sind die in Teilung tretenden Zellen bei *Sarcina* sehr verschieden groß, was namentlich dann sehr auffällig werden kann, wenn sie größere Pakete bilden. Die Zellen eines Paketes sind dann oft doppelt so groß als die eines anderen. Die Erscheinung ist so zu erklären, daß die Zellen nach der Teilung meist zur normalen Durchschnittsgröße heranwachsen, ehe eine neue Teilung die, wie es scheint, stets rasch hintereinander in drei Richtungen des Raumes erfolgt, eintritt. Unter Umständen, z. B. bei zwar reichlicher Nahrungszufuhr aber beginnender Anhäufung der eigenen Stoffwechselprodukte, ist das Wachstum verlangsamt, die Zellteilung dauert aber zunächst noch ungeschwächt fort und die Zellen bleiben deshalb kleiner. Auch kann wohl ebensogut ein Mangel an Nahrung dieselbe Einwirkung haben, so daß Pakete, die vielleicht durch andere Bakterienmassen von der Nahrung getrennt sind, sich schlechter ernähren, als diejenigen, die direkt mit ihr in Berührung stehen. Darauf deutet vielleicht die Erscheinung, daß man mitunter in ein und demselben Paket auf der einen Seite kleine, auf der anderen große Zellen antrifft. Ellis (1) glaubt allerdings nicht, daß ungünstige Verhältnisse an dem Zustandekommen dieser Bildungen beteiligt sind, weil sie sich auf der Höhe der Vegetation bereits einstellen. Indessen sollen mit dem Ausdruck „ungünstige Lebensbedingungen" auch nicht die gesamten Verhältnisse in einer Kultur, sondern die einer speziellen Zellgruppe bezeichnet werden, und solche Unterschiede kommen bei eng zusammenlagernden Bakterien in einer Kultur sicher vor. Uebrigens konstatiert auch Ellis, daß bei *Sarcina* eine Längsstreckung der Zellen vor der Teilung nicht stattfindet.

Bei einer dritten Gruppe von Kokken kann bei Verfolgung der Zellteilungen festgestellt werden, daß sie sich stets in der nämlichen Richtung vollziehen, also ähnlich wie bei den Stäbchenbakterien nur nach einer Richtung des Raumes. Man faßt alle hierher gehörigen Arten in die Gattung *Streptococcus* zusammen. Auch bei den Streptokokken fand ich (2), soweit meine allerdings auf zwei Arten beschränkte Untersuchungen reichten, die Bildung einer Teilungswand vor Beginn der Längsstreckung. Die Teilungswand ist aber sehr schwer zu erkennen, weil die Größe der von mir untersuchten Arten viel geringer ist, als bei den oben erwähnten Sarcinen und Mikrokokken. Indessen konnte

ich mich bei *Streptococcus pyogenes* und *Strept. stramineus* von dem Vorhandensein einer Zellwand vor Beginn der Längsstreckung an lebenden Zellen mehrfach überzeugen. Ellis (1) hat eine solche Scheidewand bei *Strept. tyrogenus* erst nach der Längsstreckung beobachtet und schließt 5 daraus, daß bei der Gattung *Streptococcus* umgekehrt wie bei *Sarcina*, der Vorgang ähnlich wie bei den Stäbchenbakterien sei. Eine diesbezügliche Angabe, wie Ellis meint, habe ich übrigens in meinem System der Bakterien nicht gemacht.

Die Zellteilungsfolge ist von mir (2) bei den Coccaceen als eine ganz 10 bestimmte und regelmäßige angegeben worden und zwar auf Grund meiner Beobachtungen an lebenden Zellen unter dem Mikroskop. Wenn ich allerdings auch nur von jeder Gattung wenige Arten genauer untersucht habe, so glaubte ich mich doch berechtigt, die Ergebnisse auf alle Coccaceen ausdehnen zu dürfen. So fand ich bei *Micrococcus phosphoreus* 15 stets regelmäßig Teilung nach zwei Richtungen des Raumes, und solange ich die Tochterzellen verfolgen konnte, vollzogen sich die Teilungen stets in den gleichen Richtungen. Das gleiche gilt von ungefähr 20 anderen Arten der Gattung *Micrococcus*, die ich unter dem Mikroskop im hängenden Tropfen beobachtet habe, um durch Untersuchung der 20 Teilungsverhältnisse festzustellen, ob es sich um Angehörige der Gattungen *Micrococcus* oder *Sarcina* handelte. Bei diesen Untersuchungen habe ich einige Organismen als echte Sarcinen erkannt, die bisher stets als Mikrokokken bezeichnet wurden, so den *Micrococcus agilis* Ali-Cohen, den *Micrococcus tetragenus*. Bei diesen Organismen findet nicht beliebig 25 wechselnde Teilungsrichtung in allen drei Richtungen des Raumes statt, sondern stets Teilung nach drei Richtungen in regelmäßiger Aufeinanderfolge. Eine „beliebig wechselnde Teilungsfolge“ habe ich niemals finden können, auch bei erneuter Untersuchung nicht, und muß daher bei meiner früheren Charakterisierung der Teilungsfolge bei den Cocca-30 ceen stehen bleiben, obwohl von verschiedenen Bakteriologen eine solche beliebig wechselnde Teilungsfolge für die Gattung *Micrococcus* angenommen wird, so von Fischer (1), Lehmann und Neumann (1), Flügge (1). Es ist mir nicht bekannt, ob die Annahme der genannten Forscher auf Beobachtung an bestimmten Arten beruht; es wäre immerhin denkbar, 35 daß bei manchen Coccaceen eine solche unregelmäßige Teilungsfolge vorkäme.

Allerdings gibt es eine ganze Anzahl Erscheinungen, die, bei nicht sehr eingehender Untersuchung der einzelnen Fälle, leicht zu der Annahme einer **Unregelmäßigkeit in der Teilungsfolge** verleiten können. 40 Bei der Gattung *Micrococcus* mußten aus den aufeinanderfolgenden Teilungen nach zwei Richtungen des Raumes regelmäßige Täfelchen entstehen, wie wir sie jedoch nur selten einmal zu Gesicht bekommen; vielmehr bilden sich meist unregelmäßige klumpige Haufen von Zellen, die weit eher durch Teilung nach drei als nach zwei Richtungen des 45 Raumes entstanden zu sein scheinen. Aber auch bei denjenigen Organismen, die sich nach meinen Untersuchungen ganz sicher nur nach zwei Richtungen des Raumes teilen, kommt es zu solchen klumpigen unregelmäßigen Haufen und zwar deshalb, weil in einem Konglomerat von Zellen durch gegenseitigen Druck fortwährend Verschiebungen und 50 Drehungen der Zellen eintreten, wodurch die letzteren aus ihrer ursprünglichen Richtung gebracht werden. Damit kommen natürlich auch die Teilungsebenen in eine andere Lage, und eine scheinbare Teilungsfolge nach beliebigen Richtungen ist fertig. Solche Schiebungen und

Drehungen kann man bei hinreichend großen Arten im hängenden Tropfen sehr gut beobachten. Bleiben die Zellen aber durch Gallerthüllen fest vereinigt, wie dies bei einigen Arten vorkommt, so wird man nie solche Unregelmäßigkeiten in der Teilungsfolge beobachten.

Auch innerhalb der Gattung *Streptococcus* kommen ähnliche Fälle von scheinbarer Aenderung der Teilungsrichtung vor. Wiederholt sind Verzweigungen von Streptokokkenfäden beobachtet worden, und erst neuerdings beschreibt VINCENT (1) einen „verzweigten" Streptokokkus. Die Entstehung dieser Zweigfäden ist aber ebenfalls in einigen sicher konstatierten Fällen nicht auf eine Aenderung der Teilungsfolge zurückzuführen, sondern darauf, daß infolge starker Vermehrung und starker Spannung innerhalb der die Zellen zusammenhaltenden Gallerthülle eine Zelle aus dem Verbande heraus- und neben die Nachbarzelle gleitet, ähnlich wie bei *Cladothrix dichotoma*. Solche Bilder in sehr verschiedener Abstufung von einer kaum merklichen Erhebung einer Zelle über die Nachbarzellen bis zu einem vollständigen Aufwerfen und Brechen des Fadens kann man oft in einer einzigen Kultur in Menge finden, während man sie ebenso mitunter lange Zeit überhaupt nicht findet. Verfolgt man in der feuchten Kammer eine solche Streptokokkenkette, so sieht man, daß die Bruchstelle der Ausgangspunkt der Verzweigung ist und daß je nach dem Grade der Drehung, den die aus ihrer Richtung gebrachte Zelle erhalten hat, der Zweig bald fast parallel, bald fast senkrecht zu der Mutterkette steht und dementsprechend auch die Richtung der Zellteilungen sich geändert hat. Mitunter ist aber keine Zelle des Fadens sichtbar aus ihrer normalen Richtung gebracht worden und teilt sich dennoch in einer zu der normalen senkrechten oder schiefen Richtung. Vielleicht beruhen auch diese Fälle auf einer infolge des gegenseitigen Druckes der Zellen erfolgten Drehung der schon geteilten Zelle, die nicht Raum hat, sich in der Richtung des Fadens auszudehnen. Möglich ist aber auch, daß sich in einzelnen Fällen, namentlich nach einer Ruhepause, eine Änderung der Teilungsrichtung einstellen kann.

§ 24. Die Bildung von Zellverbänden.

Die aus der Teilung einer Zelle hervorgehenden Tochterzellen lösen sich entweder sehr bald voneinander los oder bleiben kürzere oder längere Zeit miteinander vereinigt. Ist letzteres der Fall, so entstehen oft sehr charakteristische Zellverbände, die teils ziemlich fest zusammenhängen, teils aber auch nur so lose, daß sie bereits beim bloßen Berühren zerfallen. Zwischen diesen Extremen gibt es alle möglichen Übergänge. Das Zustandekommen von Zellverbänden wird sehr wesentlich durch die Lebensbedingungen, namentlich Temperatur und Art der Nährsubstrate beeinflußt, liegt aber bis zu einem gewissen Grade in den Eigenschaften der Art begründet.

Bei den Coccaceen ist die **Form der Zellverbände** infolge der Verschiedenartigkeit der Zellteilungsfolge am mannigfaltigsten, wobei hervorzuheben ist, daß einzelne Formen der Zellverbände allen Gattungen zukommen können.

Die einfachste Form ist die **Diplokokkenform**; sie kommt in allen Gattungen vor. Man hat früher von einer Gattung *Diplococcus* gesprochen, weil man glaubte, in der häufigen Vereinigung zweier Zellen ein charakteristisches Merkmal gegenüber anderen Kugelbakterien zu

sehen. Die Diplokokkenform ist aber nichts anderes, als der Ausdruck für die vollzogene Teilung einer Zelle, sie kann daher der Anfang sowohl einer Kette als eines Täfelchens als eines Paketes sein und bei Streptokokken, Mikrokokken und Sarcinen vorkommen. Ob die Zellen aber immer gerade paarweise zusammenhängen, hängt oft ausschließlich von den Lebensbedingungen ab, wiewohl auch bei manchen Arten eine ausgesprochene Neigung zur Bildung von Diplokokken nicht zu verkennen ist.

Eine Form von Zellverbänden, wie sie nur bei der Gattung **Streptococcus** vorkommt, ist die Kette. Sie entsteht dadurch, daß die stets nach der gleichen Richtung sich teilenden Zellen in Form von perlschnurartigen Ketten vereinigt bleiben. Längere Ketten gehören stets der Gattung *Streptococcus* an, aber nicht umgekehrt bilden die Streptokokkenarten stets lange Ketten. Die bekannteste Streptokokkenart, *Str. pyogenes* kommt auf Agar meist in Form kurzer Fädchen von 3—6 Gliedern oder als Diplokokken vor, während sie in Bouillon meist viel längere, oft schön gewundene Ketten von 20—40 und mehr Gliedern bilden kann. Kurze 3—4gliedrige Ketten können allerdings zuweilen auch von anderen Coccaceen gebildet werden; sie entstehen aber nicht dadurch, daß eine Zelle sich 3—4mal in der gleichen Richtung teilt, sondern dadurch, daß bei der Auflösung eines Täfelchens oder eines Paketes zufällig 3—4 in einer Reihe liegende Zellen noch vereinigt bleiben, ein Vorgang, den man sehr oft beim Zerquetschen von Sarcinamassen unter dem Deckglas beobachten kann. Sehr häufig sitzt einer oder der anderen Zelle einer auf diese Weise entstandenen Kette noch eine Zelle nach anderer Richtung an, wodurch man meist über die Natur der Kette orientiert wird. Selten kommen durch Zerfall eines Täfelchens oder Paketes Ketten von mehr als vier Gliedern vor, aber beobachtet habe ich es gelegentlich doch. Auch dadurch können mitunter kurze Ketten entstehen, daß sich bei stark schleimigen Zellwänden mehrere Zellen in Form einer Kette aneinanderhängen, ein Fall der bei in Diplokokkenform auftretenden Arten nicht selten ist. Derartige Ketten hängen allerdings nur sehr lose zusammen, aber das kommt auch bei echten Streptokokkenketten oft vor.

Eine weitere nur bei den Gattungen *Micrococcus* und *Sarcina* vorkommende Form der Zellverbände ist die **Tetrakokkenform**, bei welcher die vier Zellen wie die Ecken eines Quadrates liegen. Sie ist die typische Teilungsform bei der Gattung *Micrococcus* und bei dieser oft in ausgeprägter Weise zu beobachten. Man hat die Arten, welche sich zu je vier genähert in kleinere oder größere Täfelchen anordnen, früher als eigene Gattungen unter den Namen *Merista*, *Merismopedia*, *Pediococcus* beschrieben. Aber ebenso wie bei *Diplococcus* ist das Zustandekommen der Tetrakokkenform sehr durch äußere Einflüsse bedingt und kommt unter gewissen, für die einzelnen Arten verschiedenen Lebensbedingungen allen Mikrokokken, außerdem aber auch noch den Sarcinen zu. Bei der Gattung *Sarcina* entstehen die Tetrakokken auf zweierlei Weise. Sie können einmal beim Zerfall von Paketen gebildet werden, sind aber viel häufiger der Ausdruck einer erst nach zwei Richtungen erfolgten Teilung einer Zelle, die dann bei der Teilung nach der dritten Richtung Pakete bildet, oder, was bei ausgesprochener Tetrakokkenbildung weit häufiger der Fall ist, vorher in Diplokokken zerfällt. Man sieht in solchen Kulturen von Sarcinen überhaupt nicht etwa nur Diplokokken oder

Tetrakokken, sondern beide in wechselndem Verhältnis gemischt auch Einzelzellen, Pakete oder selbst unregelmäßige Verbände dazwischen.

Zuweilen können sich auch nachträglich Zellen in Form von Tetrakokken zusammenlagern, die gar nicht aus einer Mutterzelle hervorgegangen sind. Dies kommt namentlich bei Diplokokken vor, und dann können solche falsche Tetrakokken gelegentlich auch einmal bei Streptokokken vorkommen. Indessen sieht man an solchen nachträglich aus Diplokokken entstandenen Tetrakokken gewöhnlich eine Verschiebung der Zellen, die auf ihre Entstehung schließen läßt; die Zellen liegen nämlich nicht wie die Ecken eines Quadrates, sondern wie die Ecken eines Trapezes, indem sich der eine *Diplococcus* gewissermaßen in die Lücken des anderen einfügt.

Am weitesten geht die Bildung von Zellverbänden in der Gattung **Sarcina,** bei welcher, wenn die Zellen nach der Teilung vereinigt bleiben, würfelförmige Pakete entstehen. Die acht aus der Teilung einer Zelle nach drei Richtungen des Raumes hervorgegangenen Tochterzellen liegen wie die Ecken eines Würfels. Finden weitere Teilungen statt, ohne daß der Verband sich lockert, so bilden sich (*Fig. 8*) große warenballenartig eingeschnürte Pakete, deren Aussehen zur Aufstellung des Gattungsnamens geführt hat. Von anderen Organismen werden solche Pakete nicht gebildet; ganz ausnahmsweise kann durch zufällige Uebereinanderlagerung zweier Tetrakokken der Eindruck einer Paketbildung hervorgerufen werden. Doch sind solche Fälle sehr selten.

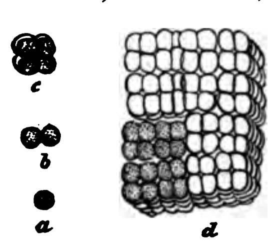


Fig. 8. Sarcina ventriculi. Aus dem Mageninhalt eines Magenkranken. *a—d* verschiedene Entwicklungsstufen. — Nach Zopf.

Das Zustandekommen solcher Zellverbände ist, wie schon erwähnt, von dem Grade der Entwicklung einer Schleim- oder Gallerthülle abhängig, welche die Tochterzellen zusammenhält. Je fester und derber dieselbe ist, desto fester ist auch der Zusammenhang der Zellen. Die gegenseitige **Abplattung,** welche die Zellen eines Verbandes, oft noch lange nach vollständig erfolgter Teilung, zeigen, ist ebenfalls der Hauptsache nach auf die Wirkung der Gallerthülle zurückzuführen; sie kann mitunter so groß sein, daß eine Kugelgestalt der einzelnen Zellen eines Verbandes gar nicht mehr zu erkennen ist. Lösen sich aber die Zellen aus dem Verbande, so nehmen sie sofort Kugelgestalt an. Je rascher die Vermehrung und Teilung in solchen Verbänden vor sich geht, desto weniger stimmt oft die Gestalt der Zellen mit der Kugel überein. Bei Streptokokken nehmen die Zellen oft die Gestalt flacher Scheiben an, die unter dem Mikroskop wie mit der Längsseite aneinander gereihte kurze Stäbchen aussehen. Erst beim Nachlassen der intensiven Teilung runden sich dann die Zellen mehr ab.

Da nun bei dem Zustandekommen der Zellverbände die äußere Hülle ein Hauptfaktor ist, so wird bei einer Aenderung ihrer Beschaffenheit auch eine Aenderung in der Form der Zellverbände eintreten. Die Hülle ist aber bei den meisten Bakterien in weitem Maße von den **Ernährungsbedingungen** abhängig; wofür der *Leuconostoc* ein gutes Beispiel ist, der nach den Untersuchungen von Liesenberg und Zopf (1) auf kohlenhydratfreien Nährböden ganz ohne Gallerthülle wächst. Auch die Gattung *Sarcina* weist eine Anzahl Arten auf, bei denen die Konsistenz der Hülle wesentlich durch die Ernährung beeinflußt wird. Nur ein kleiner Teil

bildet auf allen Nährböden Pakete, während die Mehrzahl auf Agar unregelmäßige Verbände, Tetrakokken, Diplokokken und Einzelzellen zeigt. Von diesen Arten bilden wieder die meisten in Heuinfus Pakete, andere besser in Bouillon. Es liegen hier offenbar spezifische Eigentümlichkeiten vor, die noch nicht erforscht sind.

Der *Streptococcus pyogenes* bildet auf Agar nur kurze Ketten, meist 3—8 Glieder lang, in Bouillon werden die Ketten zuweilen bis 20 mal so lang; indessen sind die verschiedenen Stämme, die von diesem Organismus in den Laboratorien gezüchtet werden, in bezug auf die Kettenbildung sehr variabel, so daß man selbst verschiedene Arten daraus hat machen wollen. Die Bildung der Zellverbände ist also auch der Variation unterworfen und kann für einzelne Formen direkt charakteristisch und ziemlich konstant sein.

Bei den Stäbchenbakterien kann naturgemäß nach der Art der Teilung nur eine Form von Zellverbänden, der Faden, in Frage kommen. Die **Fadenbildung** ist aber hier nicht mehr bloß ein Ausdruck für das zufällige, von Ernährungsverhältnissen mitbestimmte Zusammenbleiben der Zellen, sondern stellt bei vielen Arten schon ein bestimmtes Stadium in der Entwicklung dar. So tritt bei vielen sporenbildenden Arten, die vorher in Form kürzerer oder längerer Stäbchen sich entwickeln, vor der Sporenbildung ein Auswachsen zu langen Fäden ein, wie beim Heubazillus. Hier bezeichnet die Fadenbildung also einen ganz bestimmten Grad in dem Entwicklungsgang, repräsentiert gewissermaßen den höchsten Punkt der vegetativen Entwicklung, auf welche mit deren Erlöschen die Fruktifikation folgt.

Bei anderen Arten, so bei den meisten nicht sporenbildenden, ist die Fadenbildung ähnlich wie die Entstehung von Zellverbänden bei den Coccaceen allerdings kein Ausdruck für ein bestimmtes Entwicklungsstadium und daher dem Einfluß von Ernährungsverhältnissen in hohem Maße zugänglich. Der Typhusbazillus wächst in Agarkulturen meist in Form kurzer Fädchen oder einfacher Stäbchen; auf Gelatineplatten kann er zu langen ziemlich zusammenhängenden Fäden auswachsen, so daß man eine ganz andere Art vor sich zu haben glaubt. Viele Arten neigen aber überhaupt nicht zur Fadenbildung, und man sieht dann höchstens zwei oder drei Stäbchen zusammenhängen, aber bereits deutlich eingeschnürt.

Auch bei den Schraubenbakterien kann es nach der Art der Teilung nur zur Bildung schraubiger Fäden kommen. Indessen gehört die Fadenbildung hier ebensowenig wie bei den nicht sporenbildenden Stäbchenbakterien in den Entwicklungsgang, sondern stellt eine zufällige, durch äußere Verhältnisse bedingte Erscheinung dar. Sie kommt am häufigsten in der Gattung *Vibrio* (= *Microspira*) vor; während die Zellen sonst nur etwa den dritten Teil eines Schraubenumganges einnehmen, können sie z. B. bei *Vibrio tyrogenus* zu Schrauben von 80—100 Umgängen auswachsen. Am längsten kennt man solche (als **Spirochaete**-Formen bezeichnete) Schrauben bei dem Organismus der Cholera; hier bilden sie sich am häufigsten und längsten in alten Bouillonkulturen, während man sie auf schrägem Agar vergeblich suchen wird. Sehr häufig treten gleichzeitig mit langen Schraubenformen auch allerlei Involutionsformen auf, so daß der Gedanke nahe liegt, in dem Zustandekommen der ersteren bereits den Ausdruck einer verminderten Vegetationskraft zu sehen. Dazu kommt noch die Tatsache, daß sich die „Spirochaeteformen“ der Gattung *Vibrio* viel weniger intensiv färben lassen als die kurzen

kommaförmigen Glieder, was sie ebenfalls mit ausgesprochenen Involutionsformen gemein haben.

In der Gattung *Spirillum* sind lange Schrauben selten; meist haften nur zwei, zweilen 3—4 Glieder zusammen, die etwa 2—3 Schraubenumgänge bilden. Ausnahmsweise kann es auch hier mitunter zur Ent- 5 stehung langer Schrauben kommen, wie mir dies einmal in überraschender Weise bei *Spirillum rubrum* auf gewöhnlichem Agar passierte, ohne daß ich eine Ursache ermitteln konnte. Ueberhaupt neigt *Spirillum rubrum* noch am meisten von allen Arten der Gattung zur Schraubenbildung.

Bei der Gattung *Spirochaete* scheint in den langen und bei *Sp. plica-* 10 *tilis* sehr eng gewundenen Schrauben nur eine einzige Zelle vorzuliegen; es gelang mir wenigstens in keiner Weise bei dieser oder anderen Arten eine Teilung der langen Schraube in einzelne Zellen deutlich zu machen.

Mit den Stäbchenbakterien haben auch die Fadenbakterien die Bildung der fadenförmigen Verbände gemein, nur daß hier die Scheide 15 noch hinzutritt und bei manchen Arten am Schluß der vegetativen Entwicklung eine Teilung nach drei Richtungen des Raumes eintritt. Am ähnlichsten verläuft die Entwicklung der Fäden bei *Chlamydothrix*. Hier, wie bei allen Fadenbakterien, ist sie aber keine zufällige Erscheinung oder nur ein bestimmter vorübergehender Entwicklungszustand, 20 sondern umfaßt die ganze Periode der vegetativen Entwicklung. Erst zum Zweck der Reproduktion lösen sich Glieder von dem Faden los. Auch ist die Vereinigung der Zellen zum Faden infolge der Scheidenbildung eine viel festere als bei den Stäbchenbakterien.

Bei *Crenothrix* und *Phragmidiothrix* werden dann vor der Gonidien- 25 bildung infolge von Teilung nach drei Richtungen des Raumes komplizierte Zellverbände gebildet, die aber, wenigstens bei *Crenothrix*, bereits den beginnenden Zerfall des Verbandes vorbereiten. Bei *Phragmidiothrix* entstehen dagegen schon lange vor der schließlichen Gonidienbildung Zellpakete, die auffallend an die Sarcinen erinnern und wie diese, 30 nur im Inneren einer Scheide und durch diese in ihrer Form bedingt, zu warenballenartig eingeschnürten Paketen werden können.

Bei *Cladothrix* endlich kommt noch dadurch eine Verzweigung des Fadens zustande, daß infolge des inneren Druckes der wachsenden und sich teilenden Zellen die Scheide an irgend einer Stelle durchbrochen 35 wird und der Faden nun hier weiter wächst, sich gewissermaßen aus der Öffnung hervorschiebt. Bei *Sphaerotilus natans*, der offenbar mit *Cladothrix dichotoma* in eine Gattung zu vereinigen ist, scheint die Scheide weicher und dehnbarer zu sein, denn es kommt oft vor, daß die Zellfäden die Scheide nicht durchbrechen, sondern auf weite Strecken neben- 40 einander herwachsen, so daß streckenweise die Fäden bündelig zusammenliegen und von einer gemeinsamen Scheide umschlossen werden. Schließlich scheiden aber alle Fäden wieder eine eigene Scheide ab, während sich die ursprüngliche Scheide allmählich auflöst.

Neben Zellverbänden, die wesentlich durch die Teilungsfolge be- 45 stimmt werden, gibt es nun noch eine Anzahl Bakterien, die unter gewissen, z. T. noch nicht näher bekannten Verhältnissen **Kolonien** bilden, deren Zusammenhang durch flüssigere oder konsistentere Schleim- resp. Gallertmassen bedingt wird und die ohne Rücksicht auf die Teilungsfolge die verschiedenartigsten Formen annehmen können. Man kann den ein- 50 fachsten Fall dieser Art als **Zooglöenbildung** bezeichnen. Cohn verstand darunter eine Gattung, wie er ja überhaupt das Vorhandensein und die Beschaffenheit der Gallerthülle ebenso wie bei den Spaltalgen

für ein wesentliches, zur Abgrenzung von Gattungen geeignetes Merkmal hielt. Da wir aber wissen, daß die Schleimproduktion, resp. die Verquellung der Membranen, der Hauptsache nach auf Ernährungsverhältnisse zurückzuführen sind, so können wir heute in solchen Zooglöen 5 oder ähnlichen durch Schleim- oder Gallertmassen bedingten Bildungen nur noch besondere Wuchsformen erblicken, die allerdings oft äußerst charakteristisch sein können. So wird man den Froschlaichpilz in Zuckerlösungen an seinen mächtigen Gallerthüllen weit eher erkennen, als an irgend einer anderen Eigenschaft, ebenso die *Newskia ramosa* oder 10 *Bacterium vermiforme* an den Gallertausscheidungen. Aber da diese Bildungen nur unter bestimmten äußeren Verhältnissen sich zeigen, so sind die früheren Gattungen *Leuconostoc*, *Ascococcus*, *Hyalococcus*, *Leucocystis*, *Cystobacter*, *Myconostoc*, *Zoogloea* zu streichen, als Bezeichnungen für Wuchsformen aber noch immer sehr bequem.

15 Als *Zoogloea* bezeichnete man ganz allgemein irgend welche Bakterien, die in eine meist formlose Schleimmasse eingebettet waren; gewöhnlich war die Schleimmasse sehr wenig konsistent, leicht zu zerdrücken und auch leicht sich auflösend. Nahm sie eine bestimmte Form an, so wurde noch eine besondere Bezeichnung hinzugesetzt; so unterschied 20 man beispielsweise eine *Zoogloea ramigera*, wenn sich dieselbe in einzelne Stränge spaltete.

Die *Ascococcus*-Form unterscheidet sich von *Zoogloea* dadurch, daß die Schicht, in welcher die stets kugeligen Zellen liegen, derber, gallertartiger, selbst etwas knorpelig ist und eine maulbeer- oder trauben- 25 förmige Gestalt besitzt.

Bei *Leuconostoc* sind die Zellen kugelig, in Reihen angeordnet, die mächtigen Gallerthüllen oft ineinander geschachtelt; bisher nur bei *Streptococcus* (*Leuconostoc*) *mesenterioides* beobachtet.

Bei *Myconostoc* liegen spiralig oder schraubig gewundene Fäden in 30 einer Gallertkapsel eingeschlossen; die Entwicklung dieser Gebilde ist übrigens, wie hier bemerkt werden soll, noch nicht weiter verfolgt.

Die verschiedenen Formen der Zellverbände finden wir bei den Cyanophyceen zum größten Teil wieder. Die Gattung *Streptococcus* würde etwa *Anabaena*, speziell *Leuconostoc* der Gattung *Nostoc*, ent- 35 sprechen; *Micrococcus* der Gattung *Chroococcus*, *Merismopedia*; die fadenbildenden Stäbchenbakterien würden den Nostocaceen mit zylindrischen Zellen (wie *Cylindrospermum*), die scheidenbildenden Fadenbakterien der bescheideten Lyngbyen zu vergleichen sein. Für die Schraubenbakterien finden wir in der Gattung *Spirulina*, für *Beggiatoa* in der Gattung 40 *Oscillaria* ein Analogon. Diese Uebereinstimmung in der Zellform und in der Form der Verbände zwischen Bakterien und Spaltalgen ist so groß, daß eine Vereinigung beider Gruppen, solange man die Verschiedenheit ihres inneren Baues und ihrer Entwicklung nicht genauer kannte, sehr begreiflich erschien.

45 § 25. Die physiologischen Bedingungen für Wachstum und Zellteilung bei den Bakterien.

Das Wachstum und damit die Zellteilung ist bei den Bakterien ebenso wie bei anderen Pflanzen sehr wesentlich von den gegebenen Lebensbedingungen abhängig und zwar besonders von der Art der Er- 50 nährung, von der Temperatur, vom Grade der Feuchtigkeit, vom Licht

und vom Vorhandensein oder Fehlen schädlich wirkender Stoffe wie Gärungsprodukte oder Desinfektionsmittel. Die meisten dieser Verhältnisse werden an anderer Stelle zur Besprechung kommen und sollen hier nur insoweit berührt werden, als sie auf die Schnelligkeit und Intensität von Wachstum und Zellteilung Einfluß haben. 5

Wie bei anderen Organismen gibt es auch bei den Bakterien eine untere und obere **Temperaturgrenze,** ein Minimum und ein Maximum, jenseits welcher ein Stillstand der Entwicklung stattfindet, ohne daß dabei der Tod eintritt. Zwischen beiden Temperaturgrenzen liegt ein **Punkt,** das **Optimum,** bei welchem alle vegetativen Prozesse am leb- 10 haftesten vor sich gehen. Diese 3 **„Kardinalpunkte" der Temperatur** liegen für die einzelnen Bakterien verschieden weit auseinander. So wächst der *Bacillus subtilis* nach BREFELD (1) zwischen + 6 und + 50° C, am besten bei ca. 30° C. Für *Bacillus anthracis* liegt nach meinen Erfahrungen die untere Grenze bei ca. 10° über dem Gefrier- 15 punkt, das Maximum wird allgemein auf + 43° C angegeben, das Optimum liegt für Kulturen auf den gewöhnlichen Nährböden bei 30—37° C, im Tierkörper wohl noch etwas höher. Es gibt aber auch Arten, welche nur oberhalb 40° C, selbst oberhalb 50° C gedeihen, worüber in dem Kapitel über thermophile Bakterien näheres nachzuschlagen ist. Ebenso 20 gibt es Arten, wie viele phosphoreszierende, welche nach FORSTER (1) schon bei 0° C wachsen. Nähere Angaben sind darüber im fünften Abschnitte zu finden.

Diese Verschiedenheit in den Ansprüchen an die Temperatur bringen es mit sich, daß die einzelnen Bakterienarten bei bestimmten Temperatur- 25 graden eine ganz ungleiche Entwicklung zeigen; der *Bacillus subtilis* entwickelt sich im Brütschrank bei 37° C noch sehr üppig und rasch, während die fluoreszierenden Wasserbakterien hier meist überhaupt nicht mehr gedeihen, sondern ihr Wachstum schon unterhalb 30° C einstellen. 30

Mit dieser rascheren oder langsameren Entwicklung geht natürlich auch die Energie der Zellteilung Hand in Hand. Je mehr sich die Temperatur dem Optimum für eine bestimmte Bakterienspezies nähert, desto rascher werden die Zellteilungen erfolgen.

Man nimmt im allgemeinen an, daß sich ein Stäbchen irgend einer 35 der gewöhnlichen saprophytischen Arten unter günstigen Umständen etwa alle 30 Minuten teilt. Dabei ist aber, nach der Art und Weise der Zellteilung bei den Bakterien, zu berücksichtigen, daß hier mit „Zellteilung" nur ein Insaugefallen einer Teilung gemeint sein kann, weil wohl meist in einem Stäbchen mehrere Teilungen in verschiedenen 40 Stadien gleichzeitig vorhanden sind.

Mir liegen eine Anzahl im Jahre 1896 von mir ausgeführte Messungen des Wachstums von *Bac. ramosus* vor. Bei 30° C in einer feuchten Kammer im Wärmkasten (beschrieben bei BURCHARD [1]) nahm ein Stäbchen von 9 μ Länge innerhalb 30 Minuten um 6 μ zu; nach je 45 weiteren 30 Minuten maß es 22, 30, 41, 56, 71, 95, 132, 191, 298 μ. Es hatte sich also nach 5 Stunden um das 33fache verlängert. Es waren aber nicht, wie man hätte erwarten können, 33 Teilungen, sondern nur 18 erkennbar. Bei 22° C verlängerte sich ein 8 μ langes Stäbchen nach 30 Minuten auf 11 μ, nach je weiteren 30 Minuten hatte es sich 50 auf 14, 18, 24, 28, 35, 40, 49, 62, 78 μ, also nur um das 10fache, verlängert; Teilungen waren 6 eingetreten. Bei 15° C hatte sich ein 11 μ

langes Stäbchen in 5 Stunden nur auf 18 μ verlängert, ohne daß eine Teilung zu erkennen gewesen wäre.

Für viele Arten wirkt auch das Licht hemmend auf die Zellteilung ein, doch fehlen hierüber vergleichende Untersuchungen, die direkt unter 5 dem Mikroskop gewonnen worden wären. Der oben verwendete *B. ramosus* zeigte sich sehr unempfindlich gegen zerstreutes Tageslicht.

Die Zellteilung ist aber nicht bei allen Bakterien, auch unter den günstigsten Verhältnissen, so schnell wie bei *B. ramosus* oder ähnlichen Saprophyten; beim Tuberkelbazillus ist sie, wie man aus der sehr lang- 10 samen Entwicklung der Kulturen zu schließen berechtigt ist, bedeutend langsamer, bei anderen Arten kann sie wahrscheinlich viel schneller sein. Sie wird aber auch bei günstigen Temperaturverhältnissen wesentlich durch die Beschaffenheit des Nährbodens beeinflußt. Je günstiger die Zusammensetzung des Nährbodens ist, desto rascher wird auch das 15 Wachstum sein. Ebenso wird sich das Wachstum und die Zellteilung verlangsamen, wie man in älteren Kulturen beobachten kann, je mehr sich die Stoffwechselprodukte anhäufen und je mehr sich auch gleichzeitig der Nährboden erschöpft. Direkte mikroskopische Messungen und Beobachtungen liegen hierüber aber ebenfalls nicht vor.

Literatur

zum Kapitel Wachstum und Teilung der Zellen bei den Bakterien.

***Brefeld,** (1) Botanische Studien über Schimmelpilze, 1881, Bd. IV. ***Bütschli,** (1) Über den Bau der Bakterien. 1890, Leipzig. ***Ellis,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1903, I. Abt., Bd. 33, Orig., S. 1. ***Fischer,** Alfred, (1) Vorlesungen über Bakterien, 1903, II. Aufl., Jena. ***Flügge,** (1) Mikroorganismen, 1896, III. Aufl., Leipzig. ***Forster,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 12, S. 431. ***Lehmann** u. **Neumann,** (1) Atlas und Grundriß der Bakteriologie, 1899, II. Aufl., München. ***Liesenberg** u. **Zopf,** (1) in Zopf's Beitr. z. Morph. u. Biol. nied. Organismen, 1892, H. 1, S. 1. ***Meyer,** Arthur, (1) Flora, 1897, Bd. 84, H. 3. ***Migula,** (1) Arbeiten a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochsch. z. Karlsruhe, 1894, Bd. I, H. 1. — (2) System der Bakterien, 1897, Bd. I, Jena. ***Schaudinn,** (1) Archiv f. Protistenkunde, 1902, Bd. 1, S. 306. — (2) Ibidem, 1903, Bd. 2, S. 421. ***Vincent,** H., (1) Arch. de méd. exper., 1902, Bd. 14, Nr. 5. ***Winogradsky,** (1) Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien, 1888, H. 1. ***Zopf,** Spaltpilze, 1885, III. Aufl.

(*Manuskript-Einlauf: 19. Febr. 1904.*)

20

5. Kapitel.

Dauerformen und Gonidien.

§ 26. Bildung der Endosporen.

Schon PERTY (1) hatte im Jahre 1852 bei Bakterien glänzende 25 Körnchen gefunden (*Fig. 9*) und vermutungsweise die Ansicht ausgesprochen, daß es sich um Sporen handeln könne; seine Gattung *Sporonema* ist darauf gegründet. Indessen hat PERTY keinerlei Untersuchungen ausgeführt, um die Natur dieser Körnchen entwicklungsgeschichtlich festzustellen. Auch PASTEUR (1) fand bei seiner Untersuchung über die 30 Krankheit der Seidenraupen in den Bakterien stark lichtbrechende Körperchen, die er als Sporen deutete und deren erhöhte Resistenz gegen schädliche Einflüsse er erkannte. Indessen ließ auch er die morpho-

logische und entwicklungsgeschichtliche Bedeutung dieser Körperchen außer acht und begnügte sich mit dem Studium der biologischen Eigenschaften.

Dagegen beschäftigte sich Cohn eingehend nach allen Richtungen mit den Bakteriensporen. In seiner ersten Arbeit (1) kam er zu dem Schluß, daß die Bakterien Dauerzustände bildeten, weil sich nach beendigter Vegetation in Nährflüssigkeiten ein pulverförmiger Niederschlag bilde, der zwar lebende, aber ruhende und spezifisch schwerer als das Wasser gewordene Zellen enthielt. Die Frage, in welcher Weise diese Dauerzellen gebildet wurden, wurde von ihm zunächst offen gelassen. Erst in einer späteren Arbeit (2) konnte er, speziell bei *Bacillus subtilis*, den Nachweis führen, daß die Dauerzellen als Endosporen im Innern der Zellen gebildet werden. Nach seiner Beschreibung treten in dem homogenen Zellinhalt der Stäbchen zuerst stark lichtbrechende Körnchen auf, die sich zu einer oblongen oder kurz zylindrischen, stark lichtbrechenden Spore mit dunklen Konturen entwickeln. Ueber Einzelheiten bei diesem Vorgang berichtet Cohn nichts. Dagegen stellt er bereits fest, daß die Sporen, wenn sie keimen sollen, in frische Nährlösung übertragen werden müssen.

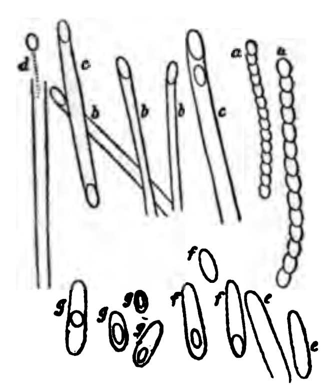


Fig. 9.
Sporenbildung nach Perty. *b—g Sporonema gracile* und zwar *b* mit je einer endständigen Spore, *c* mit je zwei Sporen; in *d* ist die Spore aus der Mutterzelle ausgetreten; *e—g* die allmälige Entwicklung der Spore bis zur Reife. *a* Gattung *Metallacter*.

Eine für jene Zeiten vorzügliche Beobachtung über die Sporenbildung des Milzbrandbazillus lieferte Robert Koch (1). Er konnte überhaupt zum erstenmal die Entwicklungsgeschichte einer Bakterienart in lückenlosem Zusammenhange von Spore zu Spore beobachten. Die Sporen bilden sich nach seiner Darstellung in den zu Fäden ausgewachsenen Stäbchen, nachdem sich der Zellinhalt vorher getrübt hat, indem zuerst kleine stark lichtbrechende Körnchen auftreten, die nach einigen Stunden zu den eiförmigen Sporen werden. Nur bei Luftzutritt findet Sporenbildung statt.

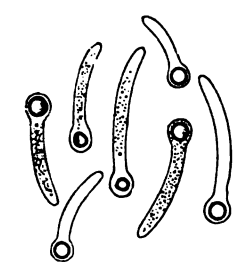


Fig. 10. Vibrio rugula. Sieben Stäbchen mit je einer endständigen Spore. Nach Prażmowski. Vergr. 1020.

Die Sporenbildung von *Bacillus subtilis* wurde dann noch von Prażmowski (1) und Brefeld genauer untersucht. Ersterer fand dieselbe ebenso wie die von *Bacillus ulna* und zwei neuen Arten, *Clostridium butyricum* (*Fig. 12*) und *Cl. polymyxa*, ähnlich wie Cohn sie beschrieben, mit dem Unterschiede, daß bei den letztgenannten Arten eine Anschwellung des Stäbchens bei der Sporenbildung eintritt. Auch Prażmowski geht auf die feineren Vorgänge bei der Sporenbildung nicht näher ein; dagegen gibt Brefeld an, daß sich zuerst an der Stelle, an welcher später die fertige Spore liegt, ein dunklerer Schatten zeigt, der in gleichem Maße deutlicher wird, als die Umgebung heller wird. Es scheine, als ob sich die Substanz des Stäbchens an einer Stelle sammle.

Eine eingehende Schilderung des Vorganges gibt DE BARY (1) für *Bacillus megaterium*. In 24—48 Stunden alten Objektträgerkulturen dieses Organismus zerfallen (*Fig. 11*) die kurzen Ketten in die einzelnen Glieder, nämlich in Stäbchen, welche aus ungefähr 4—6 isodiametrischen
5 Zellen bestehen, deren Querwände allmählich deutlicher hervortreten. Das Plasma erscheint weniger gleichmäßig, von zahlreichen, oft stark lichtbrechenden Körnchen durchsetzt und um einen helleren Mittelraum

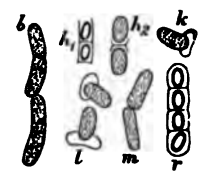


Fig. 11.
Bacillus megaterium.
Sporenkeimung.
h_1 zwei eingetrocknete reife Sporen innerhalb der erhalten gebliebenen Mutterzellwände; h_2 dieselben Sporen, nachdem sie 45 Minuten in einer Nährlösung gelegen haben; *k*, *l* der Sporeninhalt hat sich mit einer neuen Membran umgeben und schlüpft aus der Sporenhaut aus; *m* zwei voll ausgewachsene Stäbchen. Vergr. 600. Nach DE BARY.

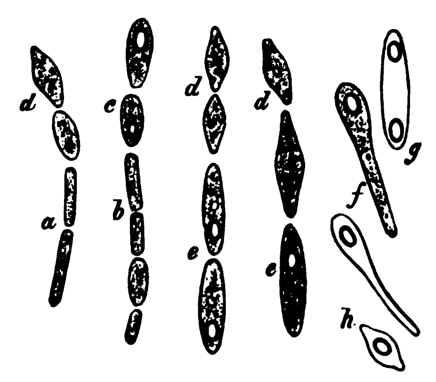


Fig. 12. Clostridium butyricum.
Sporenbildung. *a*, *b* rein vegetative Zellen; *d* die Bildung der Spore beginnt; *c*, *e* sie ist im Gange; *f*—*h* sie ist beendigt; *a*—*f* granulosehaltig, durch Jod gebläut; *h* ohne dieses Kohlenhydrat, durch Jod nicht gebläut. *g* Zelle mit 2 Sporen. — Nach PRAŹMOWSKI. Vergr. 1020.

angeordnet. Der Beginn der Sporenbildung wird dadurch angezeigt, daß „meist dicht an einer Endfläche in dem Protoplasma ein kleiner,
10 rundlicher, stark lichtbrechender Körper auftritt. Es sieht, um das Wenige was man erkennen kann rein anschaulich zu beschreiben, zuerst aus, als ob eines der erwähnten stark lichtbrechenden Körnchen im Protoplasma etwas größer geworden wäre.“ Dieses Körperchen nimmt nun rasch an Volumen zu, während das umgebende Plasma schwindet,
15 bis es schließlich zu einem länglich-zylindrischen, scharf konturierten, stark lichtbrechenden, bläulich glänzenden Körper, der Spore, herangewachsen ist.

Diese Beschreibungen der Sporenbildung durch BREFELD und DE BARY sind von den meisten Bakteriologen auch für andere Bakterien
20 bestätigt worden, es wurde sogar lange Zeit angenommen, daß es der einzige Modus der Sporenbildung sei. Erst durch PETERS (1) wurde ein Bazillus bekannt, bei welchem die Sporenbildung in abweichender Weise verläuft. Es entsteht bei dem *Bacillus E* an der Stelle, wo sich die Spore später findet, zunächst eine Plasmabrücke, und die Spore
25 erscheint bei ihrem ersten Auftreten in gleicher Größe wie in reifem Zustande, nur mit viel geringerem Lichtbrechungsvermögen. Ebenso fand L. KLEIN (1) bei seinen Sumpfwasserbakterien, daß die Sporen bei ihrem Erscheinen sogar größer aber schwächer lichtbrechend sind als die fertigen Sporen, und daß sie sich bei der Reifung zusammenziehen.
30 Ganz abweichend beschreibt FRENZEL (1) die Sporenbildung bei den von ihm studierten grünen, aus Anurenlarven gewonnenen Kaul-

quappenbazillen. Hier soll zuerst ein Sporenkern in der Mutterzelle entstehen, der sich häufig mit einem von dem übrigen Plasma verschiedenen Hof umgibt und noch teilungsfähig bleibt, so daß unter Umständen 2 Sporen in einer Zelle entstehen können. Auch dieser Sporenkern hat nach den Abbildungen von Anfang an die gleiche Größe, wie die spätere fertige Spore.

Nach A. MEYER (1) geht die Sporenbildung nicht bloß bei seinem *Bacillus asterosporus* und bei *B. tumescens* sondern auch bei *B. subtilis* in ganz anderer Weise vor sich. Nach seiner Darstellung entsteht an einem Ende eine mehr oder weniger deutliche, bei tiefer Einstellung etwas hellere Vakuole, die in ihrem Innern oft ein stärker lichtbrechendes Körnchen, das von MEYER als Zellkern angesprochen wird, erkennen läßt. Der Inhalt der Vakuole wird allmählich stärker lichtbrechend als das umgebende Plasma und umgibt sich meist mit einer hellen Zone; erst später, wenn die Sporenanlage schon sehr stark lichtbrechend ist, umgibt sie sich mit einer Membran. Bei Zusatz von Jodjodkaliumlösung lassen sich in bestimmten Entwicklungsstadien Differenzierungen in der Sporenvakuole sichtbar machen: der Kern, dunkelbraun gefärbt, oft heller braun gefärbte Plasmafäden, an welchen der Kern aufgehängt ist. Das Plasma einer Zelle gliedert sich nach MEYER in einen fertilen und einen trophischen Teil, bei der Sporenbildung wird aber das letztere nie völlig verbraucht, sondern zerfällt erst nach der Sporenreife. Dieser für *Bacillus asterosporus* typische Vorgang der Sporenbildung soll sich nun nach MEYER (2) auch im wesentlichen bei *Bacillus subtilis* wiederfinden, entgegen den Angaben von BREFELD, er neigt sogar zu der Ansicht, daß bei allen Bakterien der Vorgang der Sporenbildung in gleicher Weise verlaufe wie bei *Bacillus asterosporus*. Jedenfalls werden weitere Untersuchungen nötig sein, um die Frage nach der Art und Weise der Sporenbildung allgemein zu entscheiden.

Daß indessen sich nicht unbeträchtliche **Verschiedenheiten** in der Sporenbildung bei den Bakterien zeigen, geht schon aus dem ganz ungleichen Verhalten der vegetativen Zellen, die sich zur Sporenbildung anschicken, hervor, und auch das Verhalten dieser sporenbildenden Zellen, die wir einfach als **Sporangien** bezeichnen können, während der Sporenbildung selbst ist verschieden.

Manche Arten, die vorher in wenigzelligen Stäbchen auftreten, wachsen vor Beginn der Sporenbildung zu langen Fäden aus, wie *Bacillus subtilis* und der Milzbrandbazillus. Dagegen zerfällt *Bacillus megaterium*, der vorher locker zusammenhängende Ketten bildete, in die einzelnen Stäbchen. Noch andere, wie der Bazillus des malignen Oedems, der sehr oft neben einzelnen einzelligen Gliedern auch kurze Fäden bildet, zerfallen sogar stets in die einzelnen Zellen. Der Zellinhalt, der abgesehen von einigen heller oder dunkler erscheinenden Körnchen vorher in den Zellen ganz homogen erscheint, wird vielfach trüb, feinkörnig, wie besonders beim Milzbrandbazillus, in stärkerem oder schwächerem Grade übrigens bei den meisten Bakterien. Bei einigen Arten ist aber keine Spur von Trübung zu erkennen, so bei *Bacillus carotarum* A. KOCH und bei *B. pituitans* BURCHARD.

Auch das Sporangium selbst erleidet vielfach eine wesentliche **Veränderung der Gestalt.** Bei einem Teil der Bakterien sehen allerdings die sporentragenden Zellen nicht wesentlich anders aus als die in lebhafter vegetativer Vermehrung begriffenen. Bei einem anderen Teil geht der Sporenbildung dagegen eine Anschwellung oder bauchige **Auf-**

treibung der Mutterzelle voraus, die oft noch während der Sporenbildung erheblich zunehmen kann, so bei den verschiedenen anaeroben Buttersäurebildnern, die unter dem Gattungsnamen *Clostridium* beschrieben worden sind. Je nachdem nun die Spore in der Mitte oder mehr einem Pol genähert oder ganz an einem Ende des Stäbchens liegt, entsteht auch die Anschwellung an verschiedenen Stellen des Sporangiums; beim Tetanusbazillus ist sie regelmäßig ganz polar und es entstehen auf diese Weise die sog. **Trommelschlägel-** oder **Köpfchenbakterien.** Bei ihnen ist das eine Ende des Stäbchens durch eine große Spore köpfchenförmig aufgetrieben. Ebensolche endständige Sporen bildet *Vibrio rugula* (*Fig. 10*) *Bacillus putrificus coli* BIENSTOCK und der in den Kefirkörnern gefundene *Bacillus caucasicus (Dispora caucasica).* Beim Bazillus des Rauschbrandes dagegen liegt die Spore etwas von dem Pol entfernt, aber durchaus nicht in der Mitte, wenigstens normalerweise; die Anschwellung ist demnach eine zwischen der Mitte und dem Pole liegende, wobei auf der einen Seite der Spore noch ein kleines, auf der anderen ein sehr viel längeres Stückchen der unaufgebrauchten Mutterzelle hervorsieht. Auch bei *Bacillus asterosporus* ist die Anschwellung meist ähnlich. Bei vielen anderen Arten, so bei *Bacillus inflatus* A. KOCH (1), ist die Anschwellung ziemlich in der Mitte (*Fig. 13*) und dabei außergewöhnlich groß. Indessen ist es durchaus unmöglich, die Lage dieser Anschwellung, wie ALFRED FISCHER (1) dies tut, als Merkmal zur Abgrenzung von Gattungen zu verwenden, denn es kommen nicht nur Arten vor, bei denen man im Zweifel sein kann, ob man sie zu den mit polaren oder den mit zentralen Anschwellungen rechnen soll, sondern es gibt auch nicht wenige Arten, bei denen die Anschwellungen völlig inkonstant sind. Eine solche Art ist z. B. *Bacillus oedematis,* bei welchem in einer Kultur Stäbchen mit vollständig polaren und vollständig zentralen Anschwellungen vorkommen, während die Anschwellung bei den meisten Individuen zwischen diesen beiden Extremen in wechselnder Form liegt. Auch bei *Clostridium butyricum* und *Cl. polymyxa* kommen nach PRAŹMOWSKI, bei *Bacillus asterosporus* nach MEYER solche Verschiedenheiten vor.

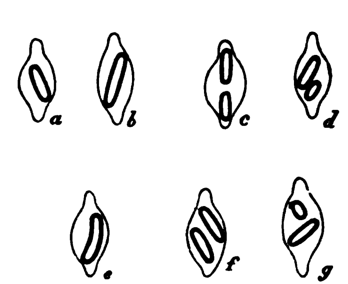


Fig. 13. *Bacillus inflatus.* Sporenbildung.
a, b, e Zellen von *Clostridium*-Form mit je einer lang-zylindrischen Endospore; *c, d, f, g* Zellen mit je zwei (ungleich großen) Sporen. Nach A. KOCH. Vergr. 2100.

Der Grad der Anschwellung ist ebenfalls bei den einzelnen Arten und auch oft innerhalb ein und derselben Art recht verschieden. Ganz auffallend ist sie beim Tetanusbazillus und bei *Bacillus inflatus.* Sie ist aber nicht immer der Größe der Spore entsprechend. Denn während beim Tetanusbazillus die Spore allerdings meist den ganzen Raum der Anschwellung ausfüllt, sind die Sporen bei *Bacillus ventriculus* und *B. inflatus* kaum den vierten Teil so breit als das angeschwollene Stäbchen; die Anschwellung rührt also in diesem Falle nicht von einer Auftreibung infolge der Ausdehnung der Spore her, sondern ist auf andere, nicht bekannte Ursachen zurückzuführen. Bei manchen Bakterien ist nur eine unbedeutende Auftreibung vorhanden. Bei wieder anderen kommen gleichzeitig in einer sporenbildenden Kultur Sporenstäbchen mit deut-

licher, oft sogar starker bauchiger Auftreibung und gar nicht aufgetriebene vor, so bei dem Bazillus der Bienenfaulbrut (*Bacillus alvei*). Ganz eigentümliche Formen nimmt die Membran des Sporangiums bei *Bacillus sporonema* SCHAUDINN (1) an. Mit der zunehmenden Ausbildung der Spore verlängert sie sich ganz außerordentlich, indem gleichzeitig das Stäbchen 5 immer dünner wird, auf beiden Seiten der mittelständigen Spore, so daß diese schließlich aussieht, wie mit zwei langen polaren Borsten, 6—8mal so lang als die Spore selbst, besetzt. Sie bleibt auch nach der Sporenreife lange Zeit vielleicht wieder bis zur Keimung bestehen, während sie sonst gewöhnlich früher oder später zerfällt und die Spore 10 hierdurch frei wird.

Das Plasma des Sporangiums wird bei der Sporenbildung wohl in der Regel nicht ganz verbraucht, es bleibt vielmehr ein geringerer oder größerer Rest im Sporangium zurück und zerfällt mit diesem. Bei manchen Arten ist dieser Rest sehr gering, so bei *Bacillus subtilis*, bei 15 anderen schon beträchtlicher und sofort in die Augen fallend, wie bei *Bacillus ramosus*, am größten vielleicht bei einigen streng anaeroben Arten, die von mir neuerdings untersucht worden sind, namentlich bei dem Rauschbrandbazillus. Es ist wahrscheinlich, daß sich diese Verhältnisse ziemlich konstant bei den einzelnen Arten zeigen. Ob es 20 Bakterien gibt, bei denen der gesamte Plasmainhalt bei der Sporenbildung verwendet wird, ist nach den neueren Untersuchungen zu bezweifeln.

Eine eigentümliche Erscheinung zeigt sich bei manchen Arten, namentlich bei einer Anzahl obligat anaerober Bakterien, wenn man die 25 Zellen vor der beginnenden Sporenbildung mit Jod behandelt. Es färbt sich nämlich ein Teil des Zellinhaltes **blau**, was auf das Vorhandensein eines der **Granulose** bezüglich der Reaktion ähnlichen Körpers hinweist. Dieser Körper ist als Reservestoff zu deuten und findet sich nur in gewissen Entwicklungsstadien, weder in jungen Zellen, die noch keine 30 Reservestoffe gespeichert haben, noch in Zellen mit ganz oder nahezu ausgebildeten Sporen, bei denen er offenbar zur Sporenbildung verwendet wurde. Er ist bei jungen Sporangien der Spore gegenüber, am anderen Pol, abgelagert. Der Körper wurde zuerst von TRÉCUL (1) bei *Amylobacter* gefunden, später in seinem Verhalten in der Zelle besonders 35 durch VAN TIEGHEM (1) untersucht, in neuerer Zeit von BEIJERINCK (1) und A. MEYER (2). (Weiteres darüber im dritten Abschnitt in dem Kapitel über die chemische Beschaffenheit des Zellinhaltes.)

Bewegliche Bakterien stellen gewöhnlich die Bewegung vor Beginn der Sporenbildung ein, wie *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*; nur 40 sehr selten kann man auch einmal bei diesen Arten noch ein bewegliches, schon in Sporenbildung begriffenes Individuum wahrnehmen. Andere Arten behalten ihre Beweglichkeit dagegen bis zur vollendeten Sporenreife bei; ich möchte sogar für den Rauschbrandbazillus annehmen, daß er noch lange Zeit, wenigstens 8 Stunden nach vollendeter Sporen- 45 reife, unter besonderen Umständen beweglich bleiben kann, vielleicht viel länger. Ich habe nämlich in einer feuchten Kammer in Wasserstoffatmosphäre einige Stäbchen des Rauschbrandbazillus mit vollständig ausgebildeten Sporen einen ganzen Tag lang beweglich gesehen, und bei den sehr wenigen Zellen, die sich in dem kleinen Tröpfchen befanden. 50 war zu übersehen, daß die wenigen nicht sporenbildenden oder mit nicht ausgebildeten Sporen zu keiner Verwechslung Veranlassung geben konnten. Die Fähigkeit, bei reifen Sporen noch eine Zeitlang beweglich

zu bleiben, scheint hauptsächlich denjenigen Arten zuzukommen, die bei der Sporenbildung anschwellen. FISCHER (2) sieht darin eine fortgeschrittenere Entwicklung besonders aus dem Grunde, weil die Stäbchen dadurch befähigt sind, die Sporen an andere, für die Keimung geeignetere 5 Orte zu tragen.

Die **Anzahl** der in einer Zelle entstehenden Sporen ist fast ausnahmslos nur 1; bei einigen wenigen Arten kommen auch mehr oder minder häufig 2 Sporen vor, so bei dem Kaulquappenbazillus FRENZEL's, bei A. KOCH's *Bacillus inflatus* und *B. ventriculus*, bei SCHAUDINN's *Bacillus* 10 *Bütschlii*. Bei anderen Arten ist das Vorkommen von 2 Sporen in einer Zelle als Seltenheit zu bezeichnen. Viele Angaben über das Vorkommen von 2 und mehr Sporen in einer Zelle sind auf das Uebersehen der Scheidewände zurückzuführen, so sicher die Angabe KERN's bei *Bacillus caucasicus*. Mehr als 2 Sporen sind mit Sicherheit niemals in einer 15 Zelle beobachtet worden.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die Bildung von 2 Sporen in einer Zelle auf eine unterbliebene letzte Zellteilung zurückzuführen ist. Darauf würde wenigstens die Beobachtung SCHAUDINN's (2) bei *Bacillus Bütschlii* hinweisen, wo vor der Sporenbildung eine Teilung eingeleitet 20 und fast vollendet wird, aber wieder zurückgeht; die entstandene Scheidewand wird in diesem Falle nur als eine scheibenartige Plasmaanhäufung ohne Membranbildung zu deuten sein. Doch kommt auch bei dem von demselben Forscher beschriebenen, nur eine Spore bildenden *Bacillus sporonema* eine solche scheinbare Einleitung der Zellteilung vor der 25 Sporenbildung vor. Beide Fälle stehen so isoliert unter den übrigen Beobachtungen von Sporenbildungen, daß sie offenbar einen ganz abweichenden Typus darstellen.

§ 27. Biologische Bedingungen der Sporenbildung.

Die Bedingungen, unter denen es zur Sporenbildung bei den Bak- 30 terien kommt, sind uns bisher nur teilweise bekannt. Dies ist auch wahrscheinlich der Grund, warum bisher nur bei einem kleinen Teil der Bakterien Sporen gefunden sind, und es ist anzunehmen, daß eine sehr viel größere Zahl unter uns noch unbekannten Verhältnissen imstande ist Sporen zu bilden. Unsere Reinkulturen, deren wir uns bei Unter- 35 suchungen über Sporenbildung zu bedienen pflegen, bieten ja nicht nur sehr einseitige sondern auch ziemlich unnatürliche Lebensbedingungen, und besonders Arten, die schon längere Zeit auf solchen künstlichen Nährböden gezüchtet sind, müssen als Kulturpflanzen betrachtet werden, die viel von ihren ursprünglichen Eigenschaften verloren haben.

40 Insbesondere ist auch die Fähigkeit, Sporen zu bilden, eine dieser Eigenschaften, die bei fortgesetzter Kultur auf künstlichen Nährböden Not leidet. Nicht alle Arten verhalten sich dabei gleich, aber die meisten zeigen nach und nach eine Abnahme in der Menge der gebildeten keimfähigen Sporen. Für den Milzbrandbazillus habe ich (1) diese Verhält- 45 nisse gelegentlich untersucht. Kulturen, die schon viele Jahre im Laboratorium gezüchtet werden, bilden oft nur noch ganz vereinzelte Sporen.

Diese Tendenz, allmählich weniger Sporen zu bilden, scheint mir allerdings speziell beim Milzbrandbazillus noch auf anderen Ursachen zu beruhen, als auf unnatürlichen Ernährungsbedingungen. Denn es finden 50 sich Stämme von Milzbrandbakterien, die sich hierin ganz verschieden

verhalten. Von einigen bei verschiedenen Gelegenheiten aus dem Blut spontan an Milzbrand erkrankter Tiere isolierten Milzbrandbazillen erhielt ich Stämme, die ihre Fähigkeit, Sporen zu bilden in völlig ungleicher Weise bewahrten, obwohl sie stets auf dem gleichen Nährboden gezüchtet wurden. Die in Kultur gelangenden Stämme des Milzbrandbazillus sind also von vornherein mit verschiedenen Eigenschaften bezüglich der Sporenbildung ausgestattet.

Ebenso zeigt sich bei fortlaufender Untersuchung der Sporenbildung in Agarkulturen, daß sich hinsichtlich der Schnelligkeit der Sporenbildung sehr erhebliche individuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Stäbchen herausbilden; entnimmt man eine Oese der Kultur und untersucht sie unter dem Mikroskop, so wird man neben Stäbchen mit ausgebildeten Sporen auch noch solche finden, die noch in lebhafter vegetativer Teilung begriffen sind. Es kann dies einmal daran liegen, daß verschiedene, zu gleicher Zeit aus den Sporen geschlüpfte Stäbchen in ihren Nachkommen eine ungleiche Neigung, Sporen zu bilden, äußern, oder daran, daß die verschiedenen Sporen zu sehr ungleicher Zeit ausgekeimt sind, was ja stets in hohem Maße der Fall ist. Dann haben die einen ihren Entwicklungslauf bereits beschlossen, während die anderen noch mitten darin stehen. Selbst in 4 Wochen alten Kulturen wird man neben Sporen noch immer einige lebende, vegetative Stäbchen finden. Da nun alle 4 Wochen in den bakteriologischen Instituten die Bakterien abgeimpft zu werden pflegen, so werden neben Sporen auch stets noch vegetative Zustände mit übertragen. Ich glaube nun hierin die Ursache einer allmählichen Abnahme der Fähigkeit Sporen zu bilden suchen zu müssen.

Es ist sehr wohl möglich, daß die **individuellen Eigentümlichkeiten** der Zellen, schneller oder langsamer zur Sporenbildung zu schreiten, auf die Tochterzellen übergehen und daß also gewissermaßen auch bei den Bakterien eine Vererbung erworbener Eigenschaften stattfindet, ähnlich wie Verlust der Farbstoffbildung, des Gelatine-Verflüssigungsvermögens usw. Wenn nun vegetative Formen, vielleicht anfangs nur in wenigen Exemplaren, mit der Fähigkeit, erst nach langer Zeit Sporen zu bilden, bei der Impfung auf den neuen Nährboden mit übertragen werden, so sind sie hier hinsichtlich der Entwicklungsgeschwindigkeit den als Sporen übertragenen Keimen wesentlich überlegen. Sie werden schon eine reiche Nachkommenschaft besitzen, ehe die Sporen gekeimt haben. Schon in dieser Kultur wird sich also eine Verschiebung zuungunsten der rasch Sporen bildenden Individuen eingestellt haben, die mit jeder weiteren Uebertragung zunehmen muß, bis schließlich eben nur noch vereinzelte Sporen zur Ausbildung kommen. Denn auch die Fähigkeit, überhaupt noch Sporen zu bilden, muß unter den angegebenen Verhältnissen immer mehr abnehmen.

Diese theoretischen Erwägungen, zu denen ich gekommen war, mußten durch ein einfaches Experiment als berechtigt oder als falsch zu beweisen sein. Wenn man eine Kultur, die nur noch vereinzelte Sporen gebildet hatte, soweit erhitzte, daß zwar die Sporen nicht getötet, alle vegetativen Formen aber vernichtet wurden, so mußten bei Uebertragung auf neuen Nährboden diese Sporen eine Nachkommenschaft mit wesentlich größerer Neigung zur Sporenbildung liefern. In der Tat gelang es mir auf diese Weise, durch viermalige Wiederholung dieser Prozedur aus einem nur sehr vereinzelt Sporen bildenden Stamm einen außerordentlich reichlich Sporen bildenden zu erhalten. Es ist

wohl anzunehmen, daß nicht bloß der Milzbrandbazillus sondern auch andere sporenbildende Bakterien sich ähnlich verhalten werden.

Daß es von Arten, deren Sporenbildung genau bekannt ist, auch Stämme gibt, welche diese **Fähigkeit** entweder **dauernd** oder doch 5 wenigstens unter unseren Kulturbedingungen **verloren** haben, ist nicht zu bestreiten. Der Bazillus der blauen Milch, bei welchem NEELSEN (1) die Sporenbildung zuerst beobachtet hatte, die dann von HUEPPE (1) bestätigt worden ist, bildet in den gegenwärtig in den bakteriologischen Instituten gezüchteten Stämmen in der Regel keine Sporen mehr. Ich 10 selbst habe aber die Sporen bei ihm vor Jahren noch wiederholt beobachtet. Ebenso hat LEHMANN (1) im Berliner hygienischen Institut eine völlig asporogen gewordene Form des Milzbrandbazillus gefunden, die auch unter den günstigsten Verhältnissen nicht mehr zur Sporenbildung zu bringen war. Beim Milzbrandbazillus ist es übrigens auch künstlich 15 gelungen eine vollständig asporogene Form zu erzielen. Es glückte dies ROUX (1) durch Kultur des Milzbrandbazillus in einer mit geringen Mengen Karbolsäure versetzten Bouillon und längere Zeit fortgesetzte Züchtung in diesem Nährboden PHISALIX (1) konnte durch Kultur des Milzbrandbazillus während mehrerer Generationen bei 42° C den gleichen Erfolg 20 erzielen.

Die **äußere Veranlassung** zur Sporenbildung wird bei den meisten Bakterien durch Veränderungen des Nährbodens gegeben; daneben machen sich aber bei manchen Arten auch noch Erscheinungen bemerkbar, die wohl nur auf innere Ursachen zurückzuführen sind. Vielleicht sind 25 solche bei allen Arten vorhanden, sie treten aber gegenüber äußeren Ursachen in den Hintergrund.

Bei *Bacillus subtilis* tritt Sporenbildung ein, wenn sich eine große Anzahl von Stäbchen, aus einer oder wenigen Sporen hervorgegangen, zu langen zellenreichen Fäden entwickelt haben. Die Zahl der vege- 30 tativen Teilungen, die stattgefunden haben, ist eine außerordentlich große. Bei *Bacillus sessilis* tritt nach KLEIN (2) unter gleichen Verhältnissen schon nach sehr wenigen (etwa 8) Teilungen Sporenbildung ein. Man kann aber bei beiden Arten die Sporenbildung dauernd verhüten, wenn man die Kulturen vor Beginn der Sporenbildung auf frischen 35 Nährboden überträgt. Eine äußere Ursache, die Uebertragung auf frischen Nährboden, verhindert also in diesem Falle die Sporenbildung.

Die Sporenbildung muß also nicht notwendig nach einer bestimmten Zahl von Teilungen eintreten. Bringt man in ein Tröpfchen Bouillon einige wenige Sporen des *Bacillus subtilis* und beobachtet in der feuchten 40 Kammer unter dem Mikroskop, so sieht man schließlich sehr zahlreiche Stäbchen resp. Fäden, die aus den wenigen Sporen hervorgegangen sind. Bringt man in ein gleich großes Tröpfchen Bouillon etwa die hundertfache Zahl von Sporen, so ist schließlich die Zahl der entstandenen Zellen am Schluß der Vegetation, wenn sich wiederum Sporenbildung 45 einstellt, nicht wesentlich größer als in dem Präparat mit Aussaat von wenig Sporen. Die Zahl der gebildeten Zellen bis zum Eintritt der Sporenbildung steht also in einem gewissen Verhältnis zu dem zur Verfügung stehenden Nährsubstrat, die Sporenbildung tritt ein, wenn für eine bestimmte Menge eines Nährsubstrates eine bestimmte Anzahl 50 Zellen gebildet sind, gleichgültig, wie viel Keime zur Aussaat gelangten. Es ist also hiernach anzunehmen, daß die Sporenbildung erst eintritt, wenn sich der Nährboden für die vegetative Entwicklung nicht mehr eignet.

H. Buchner (1) hat für den Milzbrandbazillus den Nachweis zu führen versucht, daß eine Erschöpfung des Nährbodens das Einstellen der vegetativen Vermehrung und den Eintritt der Sporenbildung bedingt, dagegen konnten Lehmann (1) und Osborne (1) zeigen, daß eine Sporenbildung auf erschöpftem Nährboden nur in viel mangelhafterer Weise stattfindet. In direkter Weise konnte ich (2) den Beweis erbringen, daß der Eintritt der Sporenbildung nicht durch Erschöpfung des Nährsubstrates bedingt wird. Fügt man nämlich zu einer kurz vor der Sporenbildung stehenden Bouillonkultur trockenes Pepton und Fleischextrakt hinzu, so wird dadurch, trotz reichlicher Zufuhr von Nährstoffen, die Sporenbildung nicht aufgehalten. Verdünnt man die Bouillon aber gleichzeitig mit sterilisiertem Wasser, so kommt es nicht zur Sporenbildung, sondern die vegetative Teilung geht wieder weiter vor sich.

Es ist also offenbar nicht die Erschöpfung des Nährbodens, sondern, wie schon Turro (1) annimmt, die **Anhäufung der eigenen Stoffwechselprodukte**, welche eine weitere vegetative Entwicklung hindert und den Eintritt der Sporenbildung veranlaßt. Die einzige Veranlassung zur Sporenbildung ist aber diese Anhäufung von Stoffwechselprodukten jedenfalls nicht; auch die Erschöpfung des Nährbodens wird in vielen Fällen dazu beitragen, oder beginnende Austrocknung, wobei allerdings gleichzeitig eine Konzentration der Stoffwechselprodukte eintritt.

Unter den durch die eigene Lebenstätigkeit der Bakterien gebildeten, ihnen schädlichen Stoffen werden die Säuren entschieden eine wichtige Rolle spielen. Es gelingt in der Tat bei intensiven Säurebildnern in zuckerreichen Kulturen den Eintritt der Sporenbildung durch Abstumpfung der Säure hinauszuschieben; ja es kann sogar gelingen, durch Zufügung von entsprechenden Mengen Natronlauge eine Keimung der schon gebildeten Sporen zu bewirken. Neben Säuren sind Alkalien, wahrscheinlich auch Toxine, als diejenigen Stoffwechselprodukte zu nennen, die ein Aufhören der vegetativen Entwicklung herbeiführen.

Neben der Anhäufung von Stoffwechselprodukten oder Erschöpfung des Nährbodens sind aber zum Zustandekommen der Sporenbildung noch andere Bedingungen notwendig, besonders geeignete Temperatur, ausreichende Feuchtigkeit und eine den Bedürfnissen der Art entsprechende Sauerstoffspannung.

Der **Grad des Sauerstoffbedürfnisses** wechselt ja bekanntlich bei ein und derselben Bakterienart je nach den sonstigen Lebensbedingungen. Es braucht hier nur auf die thermophilen Bakterien verwiesen zu werden, die bei höherer Temperatur auch bei Luftzutritt, bei niederer nur unter Luftabschluß wachsen. Es ist nach den Beobachtungen, die man am Milzbrandbazillus gemacht hat, auch wahrscheinlich geworden, daß das Sauerstoffbedürfnis der Bakterien auch bei der Sporenbildung je nach den sonstigen Verhältnissen ein verschiedenes sein kann. Weil (1) konnte beim Milzbrandbazillus Sporenbildung auch unter Wasserstoffatmosphäre erzielen, wenn er ihn auf Kartoffeln, Weizenauszug, Quitten- und Eibischschleim, festem Schafblutserum mit 25 Proz. Traubenzuckerbouillon züchtete, nicht aber auf den gewöhnlichen Nährböden. Klett (1) glaubt auch auf gewöhnlichen Nährböden in Stickstoffatmosphäre Sporenbildung erzielt zu haben, ein Resultat, welches nach den Untersuchungen von Jacobitz (1) allerdings vielleicht auf nicht genügende Verdrängung des Sauerstoffs aus dem Nährboden zurückzuführen ist. Jedenfalls zeigt sich, daß dieser Organismus in gewöhnlichen Stichkulturen nur soweit, als die Luft in den Nährboden eindringt, Sporen bildet.

Umgekehrt scheint die Anwesenheit von Sauerstoff bis zu einem gewissen Grade die Sporenbildung bei anaeroben Bakterien zu beschleunigen oder doch nicht zu hindern, wenn sie bereits angefangen hat. Ich habe wiederholt bei verschiedenen obligat anaeroben Bakterien, die auf schrägem Agar unter Wasserstoff gezüchtet waren, die Beobachtung gemacht, daß sich beim Oeffnen des Verschlusses noch keine oder nur wenige Sporen gebildet hatten, am anderen Tage aber waren reichlich Sporen vorhanden. Ein Entfernen der beim Oeffnen der Gläschen eingedrungenen sauerstoffhaltigen Luft hatte nicht stattgefunden. Vielleicht hat der Sauerstoff in diesem Falle ähnlich gewirkt wie Stoffwechselprodukte, indem er den Nährboden für weitere vegetative Entwicklung ungeeignet machte und den Eintritt der Sporenbildung beschleunigte.

Die **Temperatur** spielt besonders insofern eine bedeutsame Rolle, als sie die Vegetation der Bakterien und den Eintritt und Verlauf der Sporenbildung beschleunigt oder verlangsamt. Je schneller das Wachstum und die Teilung der Zellen ist, desto früher wird der Nährboden für die vegetative Entwicklung untauglich, und die Sporenbildung muß eintreten. Aber auch die Bildung der Sporen selbst verläuft schneller, je mehr sich die Temperatur dem Optimum nähert. Bei *Bacillus subtilis* verliefen beispielsweise von der Keimung der Spore bis zur Neubildung von Sporen

bei	14° C	72 Stunden
„	18° C	54 „
„	20° C	48 „
„	25° C	40 „
„	30° C	33 „
„	35° C	26 „
„	38° C	22 „
„	40° C	38 „

Das Optimum der Sporenbildung würde also bei *B. subtilis* etwa zwischen 35 und 38° C liegen. Es ist aber sicher, daß die Sporenbildung nicht bei allen Temperaturen, bei denen noch vegetative Entwicklung stattfindet, noch vor sich geht. Bei *Bacillus subtilis* konnte ich bei einer zwischen 4 und 8° C[1]) schwankenden Temperatur eine Sporenbildung nicht mehr erzielen, trotzdem nach einer Woche eine ganz gute Entwicklung der Kolonie zu beobachten war. Für den Milzbrandbazillus steht ebenfalls fest, daß Sporenbildung erst bei einer Temperatur erfolgt, die wesentlich höher als die untere Temperaturgrenze für das Wachstum liegt.

Die **Feuchtigkeit** ist für die Sporenbildung in dem gleichen Maße wie für die vegetative Entwicklung notwendig. Plötzliche Austrocknung hindert auch die Sporenbildung, weil eben dann überhaupt alle Entwicklung bei den Bakterien aufhört. Dagegen scheint eine allmähliche Austrocknung die Sporenbildung zu befördern, vielleicht, wie schon erwähnt, hauptsächlich infolge der dabei eintretenden Konzentration des Nährbodens.

Auch durch gewisse chemische Bestandteile, die man dem Nährboden zufügt, läßt sich eine Beschleunigung oder Verlangsamung der Sporenbildung erzielen, ohne daß das Wachstum dabei merklich beeinflußt wird. So fand Behring (1), daß bestimmte Mengen von Kalkwasser oder Calciumchlorid die Sporenbildung sehr befördern, in größeren Mengen

[1]) Die Temperatur kann zeitweise sogar höher gewesen sein.

aufhebt, ohne das Wachstum zu beeinträchtigen. Auch Salzsäure und Rosolsäure kann in bestimmten Verhältnissen die Sporenbildung aufheben und bei dauernder Kultur sogar zu asporogenen Stämmen führen (2). Verdünnung der Nährsubstrate wirkt nach LEHMANN (2) beschleunigend auf die Sporenbildung, starke Konzentration hemmend. 5

Bei anaeroben Bakterienarten haben diese äußeren Verhältnisse, wie es scheint, nicht diese ausschlaggebende Bedeutung. Während bei den mir bekannten aeroben Arten die Sporenbildung in allen Zellen ziemlich gleichzeitig eintritt — die oben erwähnten degenerierten Kulturformen ausgenommen — und sich die Sporenbildung als Abschluß der 10 Entwicklung einer Kultur darstellt, findet man bei vielen Anaeroben schon in jungen Kulturen, die auf der Höhe der vegetativen Entwicklung stehen, fast stets schon sporenbildende Individuen. Dies ist mir namentlich beim Bazillus des malignen Oedems und beim Rauschbrandbazillus aufgefallen. Die Stäbchen bleiben aber auch während der Sporenbildung 15 beweglich. Hier findet also entschieden eine oft schon ziemlich ausgiebige Sporenbildung statt, lange ehe die Erschöpfung des Nährbodens oder die Ueberfüllung mit schädlichen Stoffwechselprodukten die vegetative Entwicklung hindert. Obwohl diese Eigentümlichkeit von mir bisher nur bei anaeroben Arten beobachtet wurde, ist es selbstverständ- 20 lich möglich, daß sie auch bei Aeroben vorkommen kann; aus der Literatur sind mir aber Angaben darüber ebenfalls nicht bekannt. Auch nicht bei allen Anaeroben konnte ich sie beobachten; der Tetanusbazillus zeigt sie nicht. Eine Erklärung für dieses abweichende Verhalten ist nicht bekannt, jedenfalls sind innere Ursachen der Bakterienzelle dabei 25 maßgebend.

§ 28. Gestalt und Bau der Sporen.

Nach COHN (2) besitzen die Sporen des *Bacillus subtilis* „eine zarte, anscheinend gallertartige Umhüllung (Sporenhaut) und einen stark lichtbrechenden Inhalt“. Er nimmt an, daß die Membran für Wasser schwer 30 benetzbar oder der Inhalt ölartig ist. Anders faßt R. KOCH (1) den Bau der Spore des Milzbrandbazillus auf Grund seiner Keimungsbeobachtungen auf. Er nimmt an, daß der Inhalt aus einer stark lichtbrechenden Substanz, vielleicht Oel, bestehe und von einer dünnen Protoplasmaschicht, der eigentlichen entwicklungsfähigen Zellsubstanz umgeben sei. Die 35 Spore ist also seiner Beschreibung nach eine nackte Zelle, ohne Membran. Diese abweichende Ansicht über den Bau der Bakterienspore ist darauf zurückzuführen, daß KOCH beim Keimen der Milzbrandsporen das Abstreifen oder auch nur Hervortreten einer besonderen Bakterienmembran nirgends beobachten konnte. Erst bei späteren Untersuchungen und bei 40 Keimung der Milzbrandsporen in anderen Nährböden als den von KOCH verwendeten, ließ sich auch hier eine Sporenmembran feststellen, so daß eine Abweichung im Bau der Milzbrandsporen, wie zu erwarten war, nicht vorliegt.

Die Bakteriensporen bestehen demnach aus einer Membran und 45 einem stark lichtbrechenden Inhalt. Die **Membran** zeigt keine Cellulosereaktion; sie ist sehr derb, außen oft von einer Gallerthülle umgeben, die wahrscheinlich nur anhaftende Schleimsubstanz aus dem Inhalt des Mutterstäbchens darstellt. Gewöhnlich ist sie glatt und ohne irgend erkennbare Struktur; bei *Bacillus asterosporus* konnte A. MEYER (1) da- 50

gegen Leisten nachweisen, die außen längs verlaufen. **Dieselben sind am besten zu sehen, wenn die Spore aufrecht steht. Die Membran ist in** eine Exine und Intine gesondert, doch ist diese **Sonderung nur in** seltenen Fällen erkennbar, so nach MEYER bei *Bacillus asterosporus*, wenn 5 die Sporen aufrecht stehen, und auch bei *Bacillus tumescens*. Bei *Bacillus petroselini* BURCHARD kommt es in den weitaus meisten Fällen bei der Sporenkeimung zum Abwerfen zweier verschiedener Sporenhäute, einer äußeren dunkleren und einer inneren helleren. Die Angabe GOTTHEIL's (1), daß die äußere Sporenmembran nichts anderes als die Zellhaut des 10 Mutterstäbchens ist, kann nach meiner nochmaligen genauen Untersuchung nur auf mangelhafter Beobachtung beruhen.

Die schwere Benetzbarkeit der Sporen wurde bereits von COHN beobachtet, und es ist nicht unmöglich, daß die Membran mit irgend welchen Stoffen durchtränkt ist, die diese Eigenschaft bedingen. Die 15 große Widerstandsfähigkeit und schwere Färbbarkeit der Sporen wird vielfach ausschließlich auf die Beschaffenheit der Sporenmembran zurückgeführt, wohl mit Unrecht, denn die Membran der Spore färbt sich durchaus nicht schwer, sondern nur der Inhalt setzt der Färbung einen besonders starken Widerstand entgegen.

20 Die Membran zeigt aber bei den einzelnen Arten sehr verschiedene Ausbildung, sowohl hinsichtlich ihrer **Dicke**, als auch ihrer physikalischen Eigenschaften. Nach der Keimung bleibt sie bei manchen Arten, wie bei *Bacillus subtilis*, noch lange als ziemlich dickes abgeworfenes Häutchen für sich bestehen. Bei anderen ist sie äußerst dünn und zart 25 (*Bacillus paucicutis* BURCHARD) und fällt nach dem Abstreifen ganz zusammen. Bei noch anderen verquillt sie schon während des Keimungsprozesses mehr oder weniger, so daß es zu einem Abstreifen gar nicht kommt, wie bei *Bacillus leptosporus* KLEIN und unter Umständen auch beim Milzbrandbazillus. Sie ist aber auch nicht in ihrer ganzen Aus-30 dehnung gleich stark, sondern meist an den Polen, seltener am Aequator schwächer oder doch leichter verquellbar, wie sich bei der Keimung der Sporen zeigt. Beim Milzbrandbazillus tritt das Keimstäbchen stets an einem Pol, beim Heubazillus stets am Aequator aus der Membran hervor, weil bei diesen Arten die Membran an den genannten Stellen dem 35 Druck den geringsten Widerstand entgegensetzt. Bei *Bacillus Bütschlii* ist nach SCHAUDINN (2) sogar direkt erkennbar, daß die äußere Membran an dem einen Pol nicht vollständig geschlossen ist, so daß also hier eine Keimpore in der Membran besteht, durch welche das Stäbchen bei der Keimung austritt. Auch bei der Bildung der Spore dieser Art läßt 40 sich ebenso wie die Entstehung zweier Hüllen die Anlage der Keimpore verfolgen.

Auch die **Dehnbarkeit** der Sporenmembran ist bei den einzelnen Arten außerordentlich verschieden, was bei der Keimung erkennbar wird; bei manchen vergrößern sich die Sporen nur unwesentlich vor Austritt 45 des Keimstäbchens, bei anderen werden sie fast doppelt so dick und lang. Diese Erscheinungen sind jedenfalls wesentlich durch den Grad der Dehnbarkeit der Membran beeinflußt.

Der **Inhalt der Spore** ist in der Regel völlig homogen, sehr stark lichtbrechend und wasserarm. Die von COHN und R. KOCH früher als mög-50 lich hingestellte ölige Beschaffenheit des Inhaltes ist selbstverständlich undenkbar, da wir in dem Inhalt den eigentlichen lebendigen Teil der Spore sehen müssen und das Leben, soweit unsere Kenntnisse reichen, an eiweißartige protoplasmatische Körper geknüpft ist. Der Sporeninhalt

ist also auch der Hauptsache nach eiweißartiger Natur. Fette oder ölartige Körper enthält die Spore nach den Untersuchungen von DRYMONT und NENCKI (1) nur in kaum nennenswerten Mengen. Wahrscheinlich ist das Sporenplasma fast wasserfrei, worauf unter anderem die außerordentlich starke Lichtbrechung, die starke Quellung bei der Keimung 5 und die hohe Resistenz gegen schädigende Einflüsse hinweisen. Außerdem wird bei den meisten Bakterien der weit überwiegende Teil des Zellplasmas bei der Sporenbildung in der Spore angehäuft, was nur dadurch möglich ist, daß in der sehr viel kleineren Spore das Eiweiß in viel wasserärmerem Zustande enthalten ist. 10

Eine **Struktur** im Inhalt der Spore wurde im allgemeinen nicht beobachtet. HEGLER (1) glaubt in den Bakteriensporen Kerne beobachtet zu haben, und A. MEYER (2) konnte das Einwandern von „Kernen" in die sich bildende Spore beobachten, aber in der ruhenden Spore sie nicht nachweisen. Ich habe in den Sporen niemals Differenzierungen des Zell- 15 inhaltes beobachten können.

Gewöhnlich sind die Sporen farblos, oft mit einem sehr schwachen grünlichen oder rötlichen Schein, der wohl weniger auf eigener Färbung, als vielmehr auf Lichtbrechungserscheinungen zurückzuführen ist. Eigene grüne Färbung besitzt der Sporeninhalt der grünen Sumpfwasserbakterien 20 KLEIN's (1), in noch höherem Maße, wenigstens nach der Abbildung, jener der Sporen der von FRENZEL (1) beobachteten Kaulquappenbazillen, die bereits vor der Sporenbildung eine lichtgrüne Färbung besitzen. Die Sporen von *Bacillus erythrosporus* sollen schmutzig blaßrot sein; bei einigen fluoreszierenden Bakterien konnte ich auf Quittenschleim rötlich 25 glänzende Sporen erzielen.

Die äußere **Gestalt** der Sporen ist ziemlich einförmig. Zumeist sind sie ovoid, etwa doppelt so lang als breit. Es kommen aber auch kugelrunde und sehr lang gestreckte, die viermal länger als breit sind, vor. Auffallend sind bei einigen Arten die scharf gestutzten, unter dem 30 Mikroskop beinahe rechteckig erscheinenden Sporen, so bei *Bacillus leptosporus* L. KLEIN. Die Größe der Sporen ist ebenfalls nicht sehr beträchtlichen Schwankungen unterworfen und oft auch bei ein und derselben Art nicht ganz konstant. Indessen besteht kein bestimmtes Verhältnis zwischen Zellen- und Sporengröße. Der bis 4 μ breite und 35 gegen 8 μ lange *Bacillus oxalaticus* trägt nur 1,2 μ breite und 1,6 μ lange Sporen; bei dem nur etwa 1 μ breiten Tetanusbazillus hingegen sind die Sporen 1,5—1,9 μ breit, also bis doppelt so breit als das vegetative Stäbchen.

§ 29. Eigenschaften der Sporen. 40

Die Endosporen haben den Zweck, bei Eintritt ungünstiger Existenzbedingungen das Leben der Art in latenter Form bis zum Eintritt besserer Verhältnisse zu erhalten. Sie sind also Dauerformen und müssen für ihren Zweck mit einer Widerstandskraft gegen schädliche Einflüsse ausgerüstet sein, denen die vegetativen Zellen erliegen würden. 45

Als schädliche Einflüsse kommen im Leben der Bakterien unter natürlichen Verhältnissen hauptsächlich Austrocknung, Mangel an Nährstoffen, Ueberfüllung mit den eigenen Stoffwechselprodukten, zuweilen auch die Wirkung von Giften, als welche wir die schädlich wirkenden Stoffwechselprodukte anderer Bakterienarten ebenfalls zu bezeichnen 50

haben, in Frage. Unter der Einwirkung der menschlichen Tätigkeit sind als schädliche Einflüsse noch feuchte und trockene Hitze, sowie andere Arten von Giften, die als Desinfektionsmittel zusammengefaßt werden, hinzugetreten.

5 Es zeigt sich nun, daß die Bakterien in Form von Sporen nicht nur den natürlichen Fährlichkeiten sondern auch den durch den Menschen geschaffenen einen so großen Widerstand entgegensetzen, wie er sonst nirgends bei lebenden Wesen angetroffen wird.

Die große **Lebenszähigkeit** der Sporen wird ebenso wie ihre schwere 10 Färbbarkeit gewöhnlich auf die Beschaffenheit der Membran geschoben. Dieselbe soll, weil sie schwer benetzbar und für Wasser schwer durchlässig ist, dem Sporenprotoplasma einen so außergewöhnlichen Schutz gewähren. Die Ansicht ist sicher nicht richtig; denn wenn die Membran auch Flüssigkeiten zum Sporeninhalt schwer durchlassen sollte, so kann 15 ein so dünnes Häutchen unmöglich vor Einwirkung der hohen Hitzegrade schützen, welche die Spore ohne abzusterben aushält; diese Fähigkeit muß der eigentümlichen Beschaffenheit des protoplasmatischen Inhalts zugeschrieben werden, der wahrscheinlich aus wasserfreien Eiweißstoffen besteht, wie schon von LEWITH (1) betont wurde.

20 Auch bezüglich der Eigenschaft, nur sehr schwer Farbstoffe aufzunehmen, möchte ich der Sporenmembran allein nicht die Schuld zuschreiben. Ich glaube vielmehr, daß der wasserfreie, schwer zu tötende Protoplast sich erst nach dem Tode färbt. Quetscht man den Protoplasten aus der Sporenmembran heraus, so färbt er sich langsam, die 25 Membran ist sofort gefärbt und färbt sich auch an lebenden Sporen, während der Inhalt farblos bleibt. Wahrscheinlich ist die schwere Färbbarkeit der Sporen so zu erklären: Die Membran wirkt nur insofern, als sie Wasser schwer bis zu dem wasserfreien Protoplasten dringen läßt, dieser aber färbt sich erst, wenn er getötet ist, während die 30 Membran Farbstoffe aufnimmt. Den Durchtritt des Farbstoffes hindert die Membran, da sie sich selbst färbt, nicht. Einmal gefärbte und dann entfärbte Sporen nehmen den Farbstoff leichter auf.

Die Widerstandsfähigkeit der Sporen ist nicht nur bei den einzelnen Arten, sondern auch bei ein und derselben Art sehr verschieden. Außer-35 dem kommen auch äußere Verhältnisse dabei in Betracht, z. B. die Beschaffenheit des Substrates, in welchem sich die Sporen befinden.

Die widerstandsfähigsten Sporen, die überhaupt bekannt sind, dürften die von FLÜGGE (1) aus Milch isolierten peptonisierenden Bakterien besitzen; es sind Arten darunter, die vierstündiges **Kochen** er-40 tragen konnten. Dagegen fand DANMAPPEL (1), daß von den von ihm untersuchten sporenbildenden Bakterien nur 70 Proz. Sporen bildeten, welche eine Erhitzung auf 99—100° C während einer Minute aushielten, die meisten der übrigen vertrugen kaum ½ Minute langes Erhitzen, einzelne wurden schon bei 5—15 Sekunden langem Erhitzen getötet. 45 Sehr widerstandsfähig sind auch die Sporen der sogenannten Kartoffelbazillen, wie überhaupt der meisten in der Erde lebenden Arten; auch die Sporen des Heubazillus sind als besonders widerstandsfähig bekannt, und COHN's Methode zur Gewinnung von Heubazillen ist auf diese Eigenschaft gegründet.

50 Innerhalb der einzelnen Art kommen hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit der Sporen sehr erhebliche Unterschiede vor. Doch nur beim Milzbrandbazillus sind dieselben bisher genauer untersucht worden. So zeigten sich die Sporen dreier verschiedener Stämme dieser Art beim

Kochen in Milch ganz verschieden; die des einen waren nach 1½stündigem, die des zweiten nach 2stündigem Kochen vernichtet, während von dem dritten Stamme auch dann noch einzelne sich lebensfähig zeigten [MIGULA (3)].

Nach WEIL (1) haben auch die bei der Bildung der Sporen herr- 5 schenden Bedingungen Einfluß auf die Widerstandsfähigkeit; bei 37° C gebildete Sporen vertrugen ein 12 Minuten langes Erhitzen auf 90° C, bei 31° C gebildete nur 9 Minuten, bei 18° C gebildete nur 7 Minuten.

Auch das Alter der Sporen ist von Bedeutung für ihre Widerstandsfähigkeit. Die meisten Sporen behalten sie einige Wochen oder selbst 10 Monate in ziemlich gleichem Grade; dann nimmt sie in demselben Maße ab, als sich überhaupt die Lebensfähigkeit vermindert.

Trockene Hitze wird von den Sporen ebenso wie von den vegetativen Formen in höheren Graden resp. längere Zeit ertragen, als Kochen in Dampf oder Wasser. Dagegen können sie in anderen Flüssig- 15 keiten wieder sehr viel länger hohe Temperatur aushalten als in Wasser. Eine solche Flüssigkeit ist z. B. die Milch. Es ist zurzeit unmöglich, Milch durch Hitze unter allen Umständen steril zu erhalten, wenn man nicht eine teilweise Zersetzung mit in Kauf nehmen will. Der Milzbrandbazillus wird beispielsweise auch mit den widerstandsfähigsten 20 Sporen in Wasser sicher durch halbstündiges Kochen getötet, in süßer Milch kann er unter Umständen zwei Stunden lang gekocht werden, ohne zugrunde zu gehen. Auch die Reaktion der Flüssigkeit spielt dabei eine bedeutsame Rolle; saure Reaktion befördert das Absterben der Sporen sehr bedeutend, neutrale oder schwach alkalische verzögert sie. 25

Aehnlich wie gegen Hitze sind die Sporen auch gegen **Austrocknung** sehr resistent; in ausgetrocknetem Zustande habe ich den *Bacillus mesentericus vulgatus* in zugeschmolzenen Glasröhrchen 8 Jahre lebensfähig erhalten; ähnliche Beobachtungen sind an anderen Bakterien gemacht worden. Bei weniger widerstandsfähigen Sporen wird allerdings 30 die Fähigkeit, Austrocknung zu ertragen, 1—2 Jahre meist nicht übersteigen.

Auf die große Widerstandsfähigkeit der Sporen gegenüber chemisch wirkenden Stoffen, Desinfektions- oder Konservierungsmitteln braucht an dieser Stelle nur hingewiesen zu werden. Nähere Angaben darüber 35 sind im fünften und im sechsten Abschnitte vorliegenden Bandes zu finden.

In bezug auf die **Färbbarkeit** der Sporen ist zu bemerken, daß sie sich ähnlich wie die Tuberkelbazillen, nur in noch viel höherem Grade resistent gegen Farbstoffe verhalten, daß sie die einmal aufgenommenen aber ebenso zähe fest halten und dann nur sehr schwer zu entfärben 40 sind. Man kann deshalb ähnlich wie bei tuberkelbazillenhaltigem Sputum eine Doppelfärbung, z. B. Sporen rot, die Stäbchen blau, erzielen. Zur Färbung eignen sich nur Farbstoffe mit starken Beizen, z. B. Anilinwasserfuchsin, welches kochend längere Zeit auf die Sporen einwirken muß. Entfärbt man dann mit schwachen Mineralsäuren und Alkohol, 45 so behalten die Sporen den Farbstoff, während ihn die vegetativen Zellen verlieren; letztere kann man dann mit einem anderen Farbstoff in wässeriger Lösung, z. B. Methylenblau, nachfärben, der nicht von den Sporen aufgenommen wird. Dieses Verhalten gegen Farbstoffe ist für Endosporen sehr charakteristisch und vielfach als das Haupt- 50 erkennungszeichen derselben angesprochen worden. In zweifelhaften Fällen kann jedoch allein die Keimungsbeobachtung über die Sporennatur entscheiden.

§ 30. Die Keimung der Endosporen.

Der Keimungsprozeß der Endosporen ist ein besonderer, von der vegetativen Entwicklung der Stäbchen charakteristisch verschiedener Vorgang und insofern das einzige zuverlässige Merkmal zur Erkennung
5 von Endosporen. Denn wenn sich diese auch morphologisch durch erhöhtes Lichtbrechungsvermögen und von den vegetativen Zellen abweichende Gestalt auszeichnen, so kommen doch auch Fälle vor, in denen es fraglich sein kann, ob man Sporen oder kurze Stäbchen oder Kokken vor sich hat, oder solange die fraglichen Gebilde noch in Zellen
10 eingeschlossen sind, ob nicht irgend welche geformte Reservestoffe Sporen vortäuschen können. Beides ist tatsächlich öfters, namentlich in der medizinischen Literatur, die Veranlassung zur Annahme von Sporen bei tatsächlich nicht sporenbildenden Organismen gewesen; es braucht hier nur an die „Polkörner“ der Typhusbazillen erinnert zu werden.
15 Auch das Verhalten gegen Farbstoffe und die hohe Widerstandsfähigkeit sind nicht immer ausreichend zur Feststellung der Sporennatur, denn es können sich Zellgebilde gegen Farbstoffe ähnlich wie Sporen verhalten, und es gibt wenig widerstandsfähige Sporen neben sehr widerstandsfähigen vegetativen Zuständen (*Tyrothrix*-Arten).

20 Deshalb bleibt die Keimungsbeobachtung stets zur Erkennung der Sporennatur von der größten Bedeutung; sie liefert aber auch noch Merkmale, die für die Bestimmung der Art besonders wichtig sind, weil sie meist konstanter sind als alle anderen.

Die erste Beschreibung einer Sporenkeimung rührt von Cohn (2)
25 her, der dieselbe bei *Bacillus subtilis* beobachtete. Es ist allerdings nicht wahrscheinlich, daß es derselbe Organismus ist, den später Praźmowski und Brefeld unter dem Namen *Bac. subtilis* genauer untersucht und beschrieben haben, denn Cohn gibt für seine Art polare Keimung an. Es ist aber auch nicht unwahrscheinlich, daß Cohn unter
30 seinem *Bacillus subtilis* verschiedene morphologisch ähnliche Formen zusammengefaßt und vielleicht sogar ein Gemenge solcher gleichzeitig beobachtet hat. Denn bei seiner Art der Reinkultur von Heubazillen konnten eben alle Arten, welche Sporen von bestimmter Widerstandsfähigkeit bilden, in seinen Kulturen vertreten sein, und daß da tatsächlich
35 manchmal ganz andere Organismen dazwischen vorkommen können, hat L. Klein (2) in seiner Beschreibung der zwei „falschen“ Heupilze gezeigt.

Die erste genauere Schilderung der Sporenkeimung von *Bacillus subtilis* gibt Praźmowski (1). Die stark lichtbrechende Spore verliert
40 (*Fig. 14 u. 15*) an Lichtbrechungsvermögen, während sie gleichzeitig an Volumen zunimmt, an den beiden Polen entsteht ein halbmondförmiger nach innen vorspringender Schatten und schließlich erscheint seitlich eine Ausbauchung, die das junge hervortretende Keimstäbchen anzeigt. Aehnlich beschreibt auch Brefeld (1) die Keimung. Bei anderen Arten
45 tritt das Stäbchen an einem Pole hervor, so nach der Beobachtung R. Koch's (1) beim Milzbrandbazillus (*Fig. 16*), nach Praźmowski (1) bei *Clostridium butyricum* (*Fig. 17*) und *Cl. polymyxa*.

Die Keimung der Sporen wurde dann noch von zahlreichen Forschern an verschiedenen Bakterienarten beobachtet und beschrieben, wobei eine

Anzahl feinerer Merkmale bekannt wurde, die sehr wesentlich zur Charakterisierung der Arten mit beitragen.

Die Keimung kann nun nach den bisher gewonnenen Erfahrungen in **dreierlei Weise** erfolgen. Am häufigsten ist bisher diejenige Form

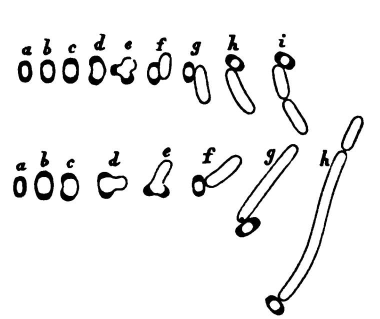


Fig. 14. Bacillus subtilis. Sporenkeimung. *a* reife Spore; *b* dieselbe in Nährlösung gebracht, der Lichtglanz schwindet; *c* sie beginnt zu schwellen; *d* der äquatoriale Riß ist erfolgt, der junge Keimling schickt sich an auszuschlüpfen; *e* in der oberen Reihe schiebt sich eben des Keimlings mittlerer Teil hinaus, in der unteren ist bereits der eine Pol frei geworden; *f* das junge Stäbchen ist in Freiheit; *g* es wächst zur normalen Größe heran; *h* es vermehrt sich durch Zweiteilung. In der unteren Reihe bei *g* und *h* je eine überlange Zelle. — Nach Prażmowski. Vergr. 1020.

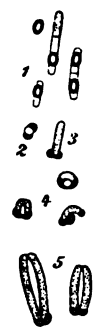


Fig. 15. Bacillus subtilis. Erschwerte Sporenkeimung. *1* Zellen mit reifen Sporen, welche die Mutterzellwand etwas ausgebaucht haben; *2* Beginn der Sporenkeimung, Sporenhaut äquatorial aufgerissen; *3* gewöhnlicher, unbehinderter Austritt des Keimlings; *4* etwas erschwerter Austritt, es gelingt endlich dem einen Pol, loszukommen; *5* beide Pole eines jeden der beiden Keimlinge bleiben eingeklemmt, diese teilen sich dann in je zwei Zellen. — Nach de Bary. Vergr. 600.

der Keimung beobachtet worden, bei welcher die Keimstäbchen die Sporenmembran an einem Pole durchbrechen. Sie findet sich bei *Clostridium polymyxa, Cl. butyricum, Bacillus sessilis* (*Fig. 18*) und vielen anderen. Seltener ist der (2.) Fall, daß das Keimstäbchen am Aequator die Sporen-

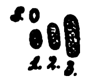


Fig. 16.
Bac. anthracis. Sporenkeimung. *s* die reife Spore vor Beginn der Keimung. *1*, *2*, *3* drei aufeinander folgende Stadien der Keimung. *3* das fertige Stäbchen. — Nach de Bary. Vergr. ca. 600—700.

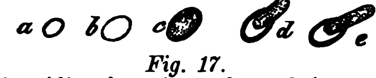


Fig. 17.
Clostridium butyricum. Sporenkeimung. *a* reife Spore; *b* dieselbe in Nährlösung aufschwellend; *c* sie hat ihre endgiltige Größe erreicht und läßt die Sonderung von *Exosporium* und *Endosporium* erkennen; *d*, *e* das junge Stäbchen verläßt die Sporenhaut an dem polaren Ende. Nach Prażmowski. Vergr. 1020.

membran durchbricht, doch sind auch hierfür eine ganze Anzahl Fälle bekannt, so bei *Bacillus subtilis, Bac. megaterium, Bac. inflatus, Bac. ventriculus* u. a. Noch seltener ist der dritte Fall, daß es nämlich zur Abhebung einer eigentlichen Sporenmembran gar nicht kommt, sondern daß sich die Spore direkt in das vegetative Stäbchen zu verlängern scheint. Dies ist beispielsweise bei *Bacillus leptosporus* L. Klein der Fall, meist auch bei *Bac. carotarum* A. Koch und zuweilen beim Milzbrandbazillus. Die Ursache dieser Erscheinung ist darin zu suchen, daß die Membran während der Sporenkeimung bereits in so hohem Grade

verschleimt, daß sie dem sich streckenden Stäbchen keinen Widerstand mehr entgegensetzt und so lange passiv gedehnt wird, bis sie sich ganz aufgelöst hat.

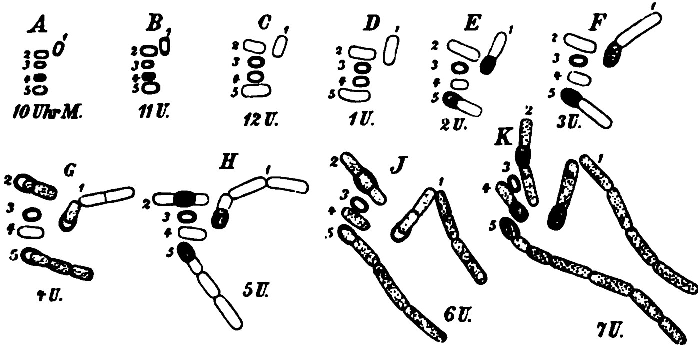


Fig. 18. Sporenkeimung bei *Bacillus sessilis*.
Fortgesetzte Auskeimung von fünf Endosporen (*1—5*) unter dem Mikroskop bei der Temperatur von 30—35° C. Züchtung im Hängetropfen. Fleischextraktlösung. Der Augenblick der Beobachtung (von 10 Uhr vormittags bis 7 Uhr abends) ist den Darstellungen der einzelnen Entwicklungsstufen (*A—K*) der Auskeimung beigesetzt. Spore 3 hat auch nach 7 Uhr abends nicht mehr ausgekeimt. — Nach L. Klein. Vergr. ca. 1000.

Es gibt auch eine Anzahl Arten, welche die Sporenmembran an einem Punkte zwischen Pol und Aequator durchbrechen, bald näher dem einen bald näher dem anderen, so bei *Bacillus loxosus* Burchard. Schließlich gibt es eine Anzahl Arten, bei denen das Durchbrechen der Membran nicht regelmäßig an demselben Punkte stattfindet, so bei *Bacillus brassicae* Pommer (1), bei welchem das Keimstäbchen bald am Pol, bald am Aequator, bald zwischen beiden durchtritt. Auch Gottheil (1) hat eine Anzahl Arten beobachtet, bei denen die Austrittsstelle der Keimstäbchen eine verschiedene war. Bei den meisten Arten ist sie aber konstant, und selbst wenn sie bei anderen nicht konstant ist, so kann das eben als ein Charakteristikum für dieselben gelten. Deshalb ist Mühlschlegel's (1) Behauptung, daß die Merkmale der Sporenkeimung wegen ihrer Veränderlichkeit keine Bedeutung für die Abgrenzung der Arten besäßen, entschieden abzuweisen. Bei Organismen, die so klein sind und so geringe Unterschiede aufweisen, wie die Bakterien, sind alle, auch die geringsten Verschiedenheiten zu berücksichtigen. Auch bei Arten mit konstanter Austrittsstelle des Keimstäbchens kommen nicht selten Ausnahmen vor, aber diese Ausnahmen bilden doch keinen Grund, die Art der Keimung als Merkmal ganz zu verwerfen. Auch Caspari (1) fand, daß bei den von Burchard untersuchten Arten die Keimung nicht so konstant ist, wie Burchard angenommen hatte.

Die Sporenmembran bietet ebenfalls bei der Keimung eine Anzahl kleiner Eigentümlichkeiten, die oft charakteristisch für Arten sind. Schwer zu entscheiden wird in den meisten Fällen sein, ob sie beim Hervortreten des Stäbchens aufreißt, oder ob sie an dieser Stelle erweicht und verschleimt ist und von dem Stäbchen einfach durchwachsen wird. In vielen Fällen kann man aber ein solches Aufreißen feststellen. Schon de Bary beobachtete es mitunter bei *Bacillus megaterium*. Bei *Bacillus loxosporus* öffnet sich die Spore durch einen äquatorialen Riß und die eine Hälfte der Sporenmembran wird bei der Keimung wie ein

Deckel zurückgeschlagen. Bei *Bacillus megaterium* reißt die Spore zuweilen im Aequator durch und das Keimstäbchen trägt an jedem Pol eine Hälfte der Sporenhaut, die oft so festsitzt, daß es fast wieder zur Sporenbildung kommen kann, ehe sie abfällt, gewöhnlich allerdings verquillt sie nach einiger Zeit und fällt ab. Bei *Bacillus sessilis* L. Klein 5 und bei *Bac. ramosus* nach Ward (1) durchbricht das Keimstäbchen die Sporenhülle öfters an beiden Polen, bei *Bacillus bipolaris* Burchard (1) ist dies sogar in der Regel der Fall.

Ebenso kann die Sporenhülle lange, ohne ihre Gestalt zu verändern, dem Stäbchen anhaften, wie bei *Bacillus amylobacter*, oder sie kann zwar 10 dem Stäbchen noch eine Zeitlang aufsitzen, aber dabei zu einem spitzen Hütchen werden, wie bei *Bac. goniosporus* Burchard. Auch die abgeworfene Sporenhülle kann, wie bei *Bac. subtilis*, ihre Gestalt ziemlich unverändert beibehalten oder sie fällt vollständig zusammen wie bei *Bac. paucicutis* Burchard. 15

Das erste **Anzeichen der Keimung** ist aber bei allen Sporen eine Verminderung der Lichtbrechung verbunden mit einem sehr merklichen Anschwellen der Spore. Offenbar nimmt der Sporeninhalt dabei ziemlich beträchtliche Mengen Wasser auf, wodurch nicht nur das Plasma wasserhaltiger und darum schwächer lichtbrechend wird, sondern auch 20 die Membran meist eine geringere oder stärkere Quellung erfährt. Das junge Stäbchen streckt sich in der Längsrichtung der Spore, und nicht die Lage desselben in der letzteren, sondern die Stelle des geringsten Widerstandes in der Membran entscheidet über den Austritt des Stäbchens. So kommt es, daß z. B. bei *Bac. subtilis* nicht immer ein Pol 25 des Stäbchens, sondern der gekrümmte Rücken zu der Oeffnung hervortritt, ja daß die beiden Pole zuweilen noch lange in der Spore stecken bleiben, während sich das Stäbchen schon hufeisenförmig hervorgekrümmt hat.

Die **Bedingungen für die Keimung** der Sporen sind in erster 30 Linie durch die Substrate gegeben, dann aber auch durch Temperatur und Feuchtigkeit bestimmt. In der gleichen Nährsubstanz, in der sich die Sporen gebildet haben, kommt es wohl nur in ganz außergewöhnlichen Fällen wieder zur Keimung, wie dies schon von Cohn beobachtet worden war (2). Beobachtungen, die das Gegenteil berichten, werden in 35 den meisten Fällen auf einen Irrtum zurückzuführen sein, der dadurch hervorgerufen wird, daß vielfach ein sehr ungleiches Auskeimen der Sporen ein und derselben Generation stattfindet und daß es zuweilen, z. B. sicher beim Milzbrandbazillus, vorkommt, daß sich in einzelnen aus Sporen entwickelten Fäden einer Kultur im hängenden Tropfen schon 40 wieder Sporen zu bilden beginnen, während andere Sporen eben erst zu keimen beginnen. Auch die Veränderung des Nährbodens, namentlich wenn ein Bakteriengemisch vorliegt, in welchem eine Art die Stoffwechselprodukte der anderen weiter zersetzt, kann bedingen, daß sich in derselben Flüssigkeit ein zweiter Vegetationsprozeß von Spore zu 45 Spore abspielt.

Es ist auch leicht begreiflich, daß eine Veranlassung zur Keimung der Sporen in einem erschöpften oder mit Stoffwechselprodukten der eigenen Lebenstätigkeit übersättigten Nährsubstrat gar nicht vorliegt. Die Sporen sind ja hauptsächlich dazu berufen, diese ungünstigen Ver- 50 hältnisse zu überdauern, welche für die vegetative Entwicklung keine geeigneten Bedingungen mehr bieten, und erst zu neuem Leben zu erwachen, wenn günstigere Verhältnisse eingetreten sind.

Eine Keimung der Sporen ist also nur zu erwarten, wenn entweder neue Nährstoffe zutreten, was bei Erschöpfung des Nährbodens notwendig ist, oder aber die vorhandenen, die Entwicklung hemmenden Gärungsprodukte verschwinden. Man erzielt deshalb regelmäßig eine Keimung der Sporen, wenn man dieselben aus der alten Kultur auf neuen Nährboden überträgt, weil hier beide Bedingungen gleichzeitig erfüllt werden. Die Beobachtung der Keimung erfolgt am besten im hängenden Tropfen in einer feuchten Kammer.

Ein gewisser Grad von **Feuchtigkeit** ist, wie überhaupt zum Leben der Bakterien, auch zur Sporenkeimung nötig, wahrscheinlich sogar ein höherer Grad als zur vegetativen Vermehrung. Auf altem, ausgetrocknetem Agar kann man leicht noch eine gute Entwicklung von Kolonien erzielen, wenn man vegetative Zustände überträgt, während jedes Wachstum ausbleibt, wenn nur sporenhaltiges Material zur Impfung gelangt.

Eine ebenfalls große Rolle spielt die **Temperatur** beim Keimungsprozeß, besonders hinsichtlich der Schnelligkeit des Verlaufs. Im allgemeinen findet Sporenkeimung erst etwas oberhalb der unteren Temperaturgrenze für das Wachstum der Art statt, sie richtet sich also überhaupt nach den Ansprüchen, die eine Art an die Temperaturverhältnisse stellt. Sie ist aber bei dieser niedrigsten Temperatur außerordentlich verzögert und dauert bis viermal so lange als bei der günstigsten Temperatur. Bei *Bacillus subtilis* liegt das Optimum der Keimung zwischen 35 und 38° C. Es vergehen vom Einlegen der Sporen in den Nährboden bei dieser Temperatur bis zum Austritt des Keimstäbchens nur 5—7 Stunden. Bei 12° C dauert dieser Prozeß etwa 2 Tage. Auch bei 40° C ist die Sporenkeimung wieder langsamer, das Optimum ist also überschritten. Zu berücksichtigen ist aber, daß diese Zahlen nur relative Gültigkeit besitzen; denn nicht nur kommen sehr große individuelle Verschiedenheiten bei Sporen ein und derselben Kultur vor, sondern die Schnelligkeit der Keimung hängt auch von dem Alter der Sporen, von dem Nährsubstrat, vielleicht auch von Varietäten ab. Je älter die Sporen sind, desto schwerer sind sie zum Keimen zu bringen. In Bouillon keimen die Sporen des Milzbrandbazillus rascher als in Gelatine.

Je nach dem Sauerstoffbedürfnis der Bakterienarten ist auch der Zutritt oder das Fehlen von **Luft** für die Keimung von Bedeutung. Streng anaerobe Arten, wie *Bacillus spinosus*, *Bac. amylobacter* und andere, keimen bei Luftzutritt auch bei sonst günstigen Verhältnissen nicht, während streng aerobe Arten wieder nicht bei Luftmangel keimen können.

Die **Keimfähigkeit** der Sporen bleibt lange Zeit erhalten, bei manchen Arten sogar außerordentlich lange; sie wird aber meist überschätzt und wird bei den meisten Arten 1—2 Jahre nicht überschreiten. Von Sporen des gewöhnlichen Kartoffelbazillus, die 8 Jahre in Glasröhrchen eingeschlossen waren, habe ich manche noch zum Keimen bringen können, ebenso 5 Jahre alte, auf Deckgläschen eingetrocknete Sporen von *Bacillus leptosporus* L. KLEIN.

Die Keimung selbst wird auch durch die Art der Nährstoffe beeinflußt. Sogar die Keimungsvorgänge können verschieden verlaufen, je nach dem Nährboden, der verwendet wird. So ist bei *Bacillus anthracis* eine Sporenmembran bei der Keimung in Bouillon kaum zu erkennen und tatsächlich auch vielfach nicht wahrgenommen worden; bei Keimung in Agar verschleimt sie nicht so schnell und bleibt eine Zeitlang sicht-

bar. Auf solchen Verschiedenheiten, die teils durch ungleiche Nährböden, teils durch Stammeseigentümlichkeiten bedingt sind, werden vielfach die abweichenden Resultate der Forscher beruhen, die sich mit Keimungsbeobachtungen der gleichen Art beschäftigt haben.

§ 31. Die Gonidien, Arthrosporen und Chlamydosporen der Bakterien. 5

Nur bei einem relativ kleinen Teil der Bakterien ist die Bildung der im Vorhergehenden besprochenen Sporen bekannt. Sie ist ziemlich verbreitet bei den Stäbchenbakterien, sehr selten bei den Kugel- und Schraubenbakterien, sie fehlt ganz bei den fadenbildenden mit einer 10 Hülle umgebenen Bakterienarten. FISCHER (2) glaubt, daß auch bei allen anderen Bakterienarten Sporenbildung vorkomme, nur daß wir bisher nicht imstande sind, den Bakterien die dazu nötigen Bedingungen in unseren Kulturen zu schaffen. Das ist wohl etwas zu weit gegangen, obwohl auch ich der Ansicht bin, daß wir bei sehr vielen Arten die 15 Sporenbildung bisher nur nicht beobachtet haben. Aber ebenso wahrscheinlich ist es mir, daß vielen Arten diese Fähigkeit nicht zukommt und daß wir neben sporenbildenden Arten auch sporenlose haben.

Da nun die Sporen in erster Linie als Dauerformen die Bestimmung haben, ungünstige Verhältnisse zu ertragen und in einem Ruhezustand 20 den Eintritt besserer Lebensbedingungen zu erwarten, so würden die sporenbildenden Arten gegenüber den sporenlosen in dieser Hinsicht außerordentlich viel günstiger gestellt sein. Man hat jedoch in bezug auf die Häufigkeit des Vorkommens, die weite Verbreitung usw. einen solchen zu erwartenden Unterschied zwischen beiden Gruppen nicht ge- 25 funden und glaubte hierfür das Vorhandensein einer anderen Art von Dauerformen annehmen zu dürfen. Diese, die **Arthrosporen,** sollten, im Gegensatz zu den bisher besprochenen **Endosporen,** nicht im Innern von Zellen entstehen, sondern direkt aus der Umwandlung vegetativer Zellen hervorgehen. 30

Bis vor wenigen Jahren ist die Annahme der Existenz von Arthrosporen ziemlich allgemein gewesen, ohne daß jedoch jemals eine befriedigende Definition für die morphologischen Charaktere der Arthrospore gegeben worden wäre. Ihren Ursprung führt die Arthrosporenlehre auf eine Klassifikation VAN TIEGHEM's (2) zurück, welcher nur die 35 Endosporen bildenden Arten als Bakterien ansah, alle übrigen Arten aber den Spaltalgen zuwies. Dies gab den Anstoß dazu, daß ähnliche Dauerzustände, wie man sie in den Arthrosporen der Spaltalgen gefunden hatte, nun auch bei den von den Bakterien zu den Spaltalgen hinübergezogenen Organismen gesucht wurden. Es wurden nun alle mög- 40 lichen, ganz heterogenen Dinge als Arthrosporen bezeichnet, so die Gonidien der Fadenbakterien resp. Scheidenbakterien, die gar keine Dauerzustände sind, ferner alle Zellen, die in irgend einer Weise morphologisch von den normalen vegetativen abwichen, auch mancherlei Degenerationsformen, wie bei Choleravibrionen. Schließlich aber war doch die Zahl 45 der Arten, bei denen man solche, wenigstens morphologisch etwas von den vegetativen Zellen abweichende „Arthrosporen“ gefunden hatte, so außerordentlich gering gegenüber der Zahl derjenigen, bei welchen keinerlei abweichende Zellen vorkamen, daß man, um die Arthrosporen-

theorie aufrecht zu erhalten, annahm, daß die Arthrosporen von den vegetativen Zellen meist äußerlich nicht zu unterscheiden wären.

Die **Lehre von der Arthrosporenbildung** bei den Bakterien wurde besonders von DE BARY (1) und HUEPPE (2) vertreten. Der erstere 5 teilte die Bakterien in endospore und arthrospore Arten und gab eigentlich die einzige zutreffende Definition für die Arthrosporen, indem er sagt, es „findet zwischen ihnen und den vegetativen Gliedern ein allgemein charakteristischer Unterschied nicht statt". Nicht sehr glücklich ist seine Annahme, daß sich in dem Speziesentwicklungsgange dieser 10 Gruppe (der arthrosporen Bakterien nämlich) einzelne Glieder einfach aus den Verbänden lostrennen können und unter geeigneten Bedingungen zum Ausgange neuer Verbände werden, daher auf den Namen Sporen Anspruch haben. Die überwiegende Mehrzahl der „arthrosporen" Bakterienarten bildet gar keine Verbände, sondern die Zellen trennen sich nach 15 der Teilung sofort voneinander, so daß also jede einzelne Zelle in ihrer vollen vegetativen Entwicklung als Spore aufgefaßt werden müßte und vegetative Zellen also gar nicht vorkämen, eine Konsequenz, die die Unmöglichkeit der obigen Annahme DE BARY's dartut. Außerdem würden ja ganz die gleichen Verhältnisse bei den endosporen Arten während 20 ihrer vegetativen Entwicklung vorliegen. Ich habe früher (2) den Versuch gemacht, auch alle einzelnen Fälle, in denen man morphologisch abweichend gestaltete Arthrosporen gefunden zu haben glaubte, kritisch zu prüfen und konnte auch in keinem einzigen Fall eine zwingende Notwendigkeit zur Annahme von Arthrosporen finden. Gewöhnlich hat 25 man in erster Linie den *Leuconostoc mesenterioides* als Beispiel einer Arthrosporen bildenden Bakterienart angeführt. Nach der eigenen Darstellung VAN TIEGHEM's handelt es sich aber um eine zweifellose Endosporenbildung, wenn der Vorgang nicht überhaupt auf einem Beobachtungsfehler VAN TIEGHEM's zurückzuführen ist, wie von ZOPF und LIESEN- 30 BERG (1) angenommen wird.

Auch *Bacterium Zopfii* KURTH galt lange Zeit als ein typisches Beispiel für Arthrosporenbildung. Die schlanken Zellen dieses Organismus wachsen zu langen Fäden aus, die am Ende einer Vegetationsperiode zu kurzen Stäbchen und schließlich in isodiametrische, fast 35 kokkenartige Zellen zerfielen. In der Tat sind die letzteren auch als Kokken gedeutet worden, und namentlich die Anhänger eines weitgehenden Pleomorphismus glaubten in diesem Organismus den Beweis für den Uebergang von Stäbchen in Kokken gefunden zu haben. Die Gegner dieser Lehre aber erklärten die kurzen Glieder für Arthro- 40 sporen.

Wenn man den Charakter der Arthrosporen wenigstens in dem einen Punkte festlegen will, daß sie, wie bei den Schizophyten, Dauerzellen sein sollen, so kann man den kurzen Gliedern von *Bacterium Zopfii* den Charakter von Arthrosporen aber nicht beilegen. Ihre Wider- 45 standsfähigkeit gegen Eintrocknen ist kaum größer als diejenige vegetativer Zellen. Und als Dauerzustände erweisen sie sich schon deshalb nicht, weil Kulturen mit solchen kokkenartigen Zellen in wenigen Wochen absterben, wenigstens nicht länger am Leben bleiben als andere Arten, die weder solche Arthrosporen noch Endosporen bilden. Ruhende 50 Zellen sind es allerdings insofern, als infolge von Mangel an Nährstoffen oder zu großer Anhäufung der eigenen Stoffwechselprodukte eine weitere Teilung unmöglich gemacht ist. Wie aber aus dem Kapitel über Zellteilung ersichtlich ist, sind die Stäbchen nicht identisch mit einer

Zelle, sondern repräsentieren gewöhnlich eine Gruppe von Zellen mit vollendeten oder eingeleiteten Teilungen. Hört aber die vegetative Vermehrung auf, so werden wohl die eingeleiteten Teilungen zu Ende geführt, aber keine neuen mehr begonnen, und auch ein weiteres Wachstum der Stäbchen hört auf. Die einzelnen Zellen sind dann fast isodiametrisch, und wenn sie sich, wie bei *Bacterium Zopfii*, schließlich trennen, so nehmen sie eine rundliche Gestalt an, wie sich ja auch die Enden der meisten Stäbchen abrunden. Aehnlich wie bei *Bacterium Zopfii* kommt es auch bei vielen anderen Bakterien am Schluß einer Vegetationsperiode zu einem Zerfall in kürzere, oft kokkenartige Glieder, wie bei *Bacterium allantoides* L. KLEIN (2).

Auch die größere Widerstandsfähigkeit dieser Endglieder einer Vegetationsreihe ist nicht notwendig als ein physiologischer Beweis für die Arthrosporennatur anzusehen; sie ist vielmehr in der allgemein gefundenen Tatsache begründet, daß alle in lebhafter Entwicklung befindlichen Organe und Pflanzen zarter und empfindlicher sind als ältere, in denen vegetative Teilung und Wachstum nicht mehr vorkommt. Auch unter den endosporen Bakterien existiert ein Beispiel hierfür. Der asporogene Milzbrandbazillus, dessen Fähigkeit, Endosporen zu bilden, vorübergehend oder dauernd verloren gegangen ist, ist während seiner vegetativen Entwicklung ebenso empfindlich wie die endosporenbildende Form. Am Schluß einer Vegetationsperiode, wenn die vegetativen Teilungen aufgehört haben, ist er wesentlich resistenter gegen Austrocknung und gegen trockene Hitze. Es liegen also hier bei einer typisch endosporen Art ganz analoge Verhältnisse vor wie bei nicht endosporen Bakterien.

Neuerdings ist auch von A. MEYER (3) die Möglichkeit einer Art Arthrosporenbildung, die er als **Chlamydosporen** bezeichnet, ausgesprochen worden. Er fand in alten Kulturen von *Bacillus cohaerens*, *Bac. Ellenbachensis* und *Bac. ruminatus* Gebilde, welche in ihrem Aussehen den Chlamydosporen von Pilzen entsprechen; bei ersterem fanden sich im unteren, noch feuchten Teil der Agarkultur neben dünnen Fäden und Stäbchen auch dickere Fäden, in denen zwischen plasmafreien auch sehr plasmareiche, mehr oder weniger stark angeschwollene Zellen mit dickerer Membran lagen. Aehnliche „Chlamydosporen" fand MEYER auch bei *Bac. Ellenbachensis*; bei *Bac. ruminatus* waren sie meist kugelig. Keimungsbeobachtungen konnten an dem Material nicht gemacht werden.

Wenn sich diese „Chlamydosporen" A. MEYER's tatsächlich als entwicklungsfähige Ruhezustände von Bakterien ausweisen sollten, was nach der Beschreibung wohl wahrscheinlich ist, so wäre damit eine Art von Dauerformen für Bakterien bekannt geworden, die in ganz anderer Weise auf den Namen „Sporen" Anspruch hätten, als die bisher beschriebenen „Arthrosporen". Die wesentliche Veränderung der Gestalt, der größere Plasmareichtum und die deutlich dickere Membran würden Merkmale abgeben, die sie auch morphologisch hinreichend von den vegetativen Zuständen unterscheiden ließen.

Als Arthrosporen wurden auch früher die der vegetativen Vermehrung dienenden **Gonidien** der am höchsten entwickelten Spaltpilze, der Faden- oder Scheidenbakterien, bezeichnet. Allein diese tragen am allerwenigsten einen Charakter als Dauerzustände; denn ihnen ist gerade gemeinsam, daß sie sofort wieder zu neuen Pflanzen auswachsen. Ich habe daher gemeinsam für diese Organe der vegetativen Vermehrung bei den Scheidenbakterien den Namen Gonidien angewendet (2), obgleich

allerdings deren Eigenschaften bei den einzelnen Gattungen recht verschieden sind.

Bei der am tiefsten stehenden Gattung *Chlamydothrix* sind die Gonidien kaum von den vegetativen Zellen verschieden. Die Scheide der Zellfäden ist bei dieser Gattung ziemlich deutlich, mitunter sogar sehr dick; innerhalb der Scheide trennen sich nun die einzelnen Glieder voneinander und werden aus der Scheide passiv infolge des Wachstums und der Zellteilungen tiefer liegender Zellen herausgedrängt. Diese Zellen sind unbeweglich, werden durch Strömungen an andere Gegenstände, Wasserpflanzen, Algen usw. gespült und kleben hier fest. Sie teilen sich dann einfach in derselben Weise wie die vegetativen Zellen und wachsen zu neuen Fäden aus.

Bei der Gattung *Thiothrix* gliedert sich nach Winogradsky (1) ein 8—9 μ langes Stück am Ende des Fadens ab, bleibt aber zunächst noch durch die zarte Scheide mit dem Faden in Zusammenhang. Das Stück beginnt nun anfangs kaum merklich zu zittern, später hin und her zu schwanken, indem es sich in einem Winkel zu dem Faden stellt oder sich ganz an ihn anlegt; dabei sind aber die Bewegungen sehr träge und von öfteren Ruhepausen unterbrochen. Schließlich heftet sich das Fadenende mit dem Stäbchen am Glase an, das Stäbchen beginnt zu kriechen, den Mutterfaden ausreckend oder biegend, bis es endlich von letzterem losreist; es kriecht dann noch auf dem Glase eine Zeitlang umher, indem es sich bald mit der Längsseite anlegt, bald das andere Ende wieder aufrichtet. Die Beweglichkeit dauert 1—3 Stunden und es legt in dieser Zeit 50—100 μ zurück, dann kommt es zur Ruhe, sondert ein basales Schleimpolster ab und wächst unter starker Krümmung zu einem neuen Faden aus. Bei längeren Fäden kommt es öfters zur gleichzeitigen Abgliederung mehrerer Stäbchen, die sich dann zugleich am Glase festsetzen, die beschriebenen Bewegungen ausführen und sich schließlich voneinander trennen.

Bei *Cladothrix dichotoma* sind die Gonidien ebenfalls beweglich, und zwar, wie Fischer (1) festgestellt hat, infolge eines dicht unter einem Pole stehenden seitlichen Geißelbüschels. Nach Büsgen (1), der die Entstehung der Schwärmer bei *Cladothrix* näher verfolgte, entstehen sie an den Enden der Fäden, indem sich ein oder mehrere Endglieder zu bewegen anfangen und schließlich abreißen. Die Gonidien schwärmen eine Zeitlang umher und setzen sich dann fest, ohne aber zunächst zur Ruhe zu kommen, indem sich das freie Ende noch hin und her bewegt oder Kreisbewegungen ausführt. Es kann auch vorkommen, daß sich die Zellen nochmals losreißen und zu schwärmen beginnen, ehe sie sich wieder festsetzen und zur Ruhe kommen. Dann wachsen sie zu neuen Fäden aus, die sich mit einer Scheide umhüllen. Da die Gonidienbildung an den Enden der Fäden beginnt, an denen sich noch keine Scheide gebildet hat, so ist anfangs ein Hindernis durch die Scheide nicht gegeben. Die Gonidienbildung schreitet aber immer weiter nach der Basis der Fäden zu fort und dann entstehen die Schwärmer auch im Innern der Scheide, aus der sie sich oft ziemlich mühsam herausarbeiten müssen. An den tieferen Stellen verquillt die Scheide nicht, wie Büsgen meint.

Wieder ganz anders verläuft die Gonidienbildung in der Gattung *Crenothrix*. Die Fäden von *Crenothrix polyspora* bestehen aus kurz scheibenförmigen, von einer ziemlich dicken Scheide eingeschlossenen Zellen, die sich anfangs nur senkrecht zur Längsrichtung des Fadens

teilen. Bei Beginn der Gonidienbildung tritt Zellteilung nach allen drei Richtungen des Raumes ein und es entstehen zunächst kleine würfelförmige Zellen, die sich voneinander loslösen und abrunden. Die Bildung dieser kleinen, fast kugeligen Gonidien schreitet von der Spitze nach der Basis zu fort, während in den unteren Schichten des Fadens die vegetativen Querteilungen allein weiter vor sich gehen. Dadurch werden die Gonidien immer nach dem Scheitel des Fadens gedrängt, die Scheide wird gesprengt und die Gonidien treten hervor. Die Gonidien sind unbeweglich, werden passiv vom Wasser fortgeführt und setzen sich irgend wo, oft an dem Mutterfaden, fest, um sofort wieder auszukeimen.

Ganz ähnlich verläuft die Teilung und Gonidienbildung bei der nahe verwandten Gattung *Phragmidiothrix* nach ENGLER (1). Die Teilung nach 3 Richtungen setzt ebenfalls erst vor Beginn der Gonidienbildung ein; es entstehen dabei eigentümliche *Sarcina*-artige Pakete, die für diese Gattung charakteristisch sind.

Den Gonidien kommt der Charakter von Dauerzellen ausnahmslos nicht zu. Sie sind nicht bestimmt, Ruheperioden durchzumachen oder die Arten bei ungünstigen Verhältnissen am Leben zu erhalten, sondern sie dienen der Vermehrung. Deshalb keimen sie auch sämtlich sehr bald nach dem Loslösen vom Mutterfaden wieder aus und können demnach mit den Arthrosporen der Schizophyceen nicht verglichen werden

Literatur

zum Kapitel Dauerformen und Gonidien.

***de Bary,** (1) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bakterien, 1884. ***Behring,** (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 6, S. 124. — (2) Ebenda. 1889, Bd. 7, S. 169. ***Beijerinck,** (1) Verh. d. Koninkl. Akad. van Wetenschappen te Amsterdam, 1893, II. Sect., Deel I, Nr. 10. ***Brefeld,** (1) Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, 1881, H. IV. ***Buchner,** (1) Sitzung der math.-phys. Kl. d. Akad. d. Wissensch. zu München vom 7. Februar 1880. ***Büsgen,** (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1894, Bd. 12, S. 147. ***Burchard,** (1) Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochsch. z. Karlsruhe, 1898, Bd. 2, S. 1. ***Caspari,** (1) Arch. f. Hyg., 1903, Bd. 42, S. 71. ***Cohn,** F., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1872, Bd. I, H. 2, S. 127. — (2) Ebenda. 1876, Bd. 2, H. 2, S. 246. ***Danmappel,** M., (1) Inwieweit ist die höhere Widerstandsfähigkeit der Bakteriensporen ein allgemeines Charakteristikum derselben gegenüber den vegetativen Spaltpilzformen? Königsberg 1899. ***Engler,** A., (1) Ueber die Pilzvegetation des weißen oder toten Grundes in der Kieler Bucht. Kiel 1883. ***Fischer,** Alfred, (1) Pringsheim's Jahrb., 1895, Bd. 27, H. 1. — (2) Vorlesungen über Bakterien, Jena 1903, II. Aufl. ***Flügge,** (1) Z. f. Hyg., 1894, Bd. 17, S. 296. ***Frenzel,** (1) Z. f. Hyg., 1891, Bd. 11. ***Gottheil,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1901, II. Abt., Bd. VII, S. 430. ***Hegler,** (1) Bot. Centralbl., 1895, LXIV, S. 203. ***Hueppe,** F., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1884, Bd. II, S. 309. — (2) Die Formen der Bakterien. Wiesbaden 1886. ***Jacobitz,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1901, I. Abt., Bd. 30, S. 232. ***Klein,** L., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1889, Bd. VII, S. (57). — (2) Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. VI, S. 113. ***Klett,** A., (1) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 35, S. 420. ***Koch,** Robert, (1) Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1876, Bd. II, H. 2, S. 277. ***Koch,** Alfred, (1) Bot. Ztg., 1888, Bd. 46, S. 277. ***Lehmann,** (1) Münchener med. Wochenschr., 1887, Nr. 26. — (2) Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. z. Würzbg., 8. Febr. 1890. ***Lewith,** (1) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 1889, Bd. 26, S. 341. ***Liesenberg u. Zopf,** (1) Zopf's Beitr. z. Physiol. u. Morph. nied. Organ., 1892, H. 1, S. 1. ***Meyer,** Arthur, (1) Flora, 1897, Bd. 84, H. 3. — (2) Flora, 1999, Bd. 86, S. 428. — (3) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1901, XIX, H. 6, S. 428. ***Migula,** (1) Z. f. angew. Mikrosk., 1901, Bd. V, H. 1. — (2) System d. Bakterien, Jena 1897, 1. Bd. — (3) Deutsch. Tierärztl. Wochenschr., 1896, Nr. 15. ***Mühlschlegel,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1900, II. Abt., Bd. VI, S. 65. ***Neelsen,** (1) Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pflanz., Bd. III, S. 187. ***Osborne,** (1) Arch. f. Hyg., 1890, Bd. XI, S. 51. ***Pasteur,** L., (1) Études sur la maladie des vers à soie. I. 1870. ***Perty,** (1) Zur Kenntnis kleinster Lebensformen 1852. ***Peters,** (1) Bot. Ztg., 1889, Bd. 47, S. 405. ***Phisalix,** (1) Le Bull.

méd., 1892, Nr. 35. ***Pommer,** (1) Mitt. d. bot. Inst. z. Graz, 1886, Bd. I, S. 95. ***Prazmowski,** (1) Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig 1880. ***Roux,** (1) Ann. Pasteur, 1890, Bd. 4, S. 24. ***Schaudinn,** (1) Arch. f. Protistenkunde, 1903, Bd. II, S. 421. — (2) Ebenda. 1902, Bd. I, S. 306. ***Trécul,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1865, Bd. 61, S. 156 u. 432. ***Turro,** (1) Ref. Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. X, S. 91. ***van Tieghem,** (1) Ann. des sc. nat., 1878, Sér. VI, T. VII, S. 180. — (2) Traité de botanique, 1883, 1. Aufl. ***Ward, M.,** (1) Proceed. of the R. Soc. of London, 1895, LVIII, S. 1. ***Weil,** (1) Zur Biologie der Milzbrandbazillen. Inaug.-Diss. München 1899. ***Winogradsky,** (1) Beiträge z. Physiologie und Morphologie der Bakterien, 1888, H. 1.

(*Manuskript-Einlauf: 19. Febr. 1904.*)

6. Kapitel.

Einteilung und Stellung der Bakterien im System.

§ 32. Verwandtschaftliche Beziehungen der Bakterien unter sich und zu anderen Organismen.

Was man gegenwärtig alles zu den Bakterien rechnet, ist zum Teil nur recht weitläufig miteinander verwandt, obgleich unsere Kenntnis vom Bau und der Entwicklungsgeschichte der einzelnen Formen noch viel zu oberflächlich ist, um über die näheren Beziehungen der verschiedenen Gattungen und Familien ein endgültiges Urteil fällen zu können. Auch gehen die einzelnen Ansichten hierüber sehr weit auseinander.

So stehen die am höchsten entwickelten Formen, die ich unter dem Namen Scheidenbakterien zusammengefaßt habe, den anderen Familien, Coccaceen, Bacteriaceen und Spirillaceen, entschieden ziemlich fern und sind durch keine Zwischenglieder mit ihnen verbunden. Aber auch unter sich zeigen sie große Verschiedenheiten, namentlich hinsichtlich der Bildung der Gonidien. Eine *Cladothrix* zeigt sich von *Crenothrix* in der Bildung der Gonidien so abweichend, daß man ebenso berechtigt wäre, sie in verschiedene Familien unterzubringen, wie die Kugelbakterien und Stäbchenbakterien. Enger schließen die Coccaceen, Bacteriaceen und Spirillaceen zusammen; sie zeigen keine so großen Verschiedenheiten, daß man ihre nahe Verwandtschaft nicht ohne weiteres erkennen könnte.

Zweifelhaft bleibt auch die Stellung der Schwefelbakterien. Wenn auch neuere Untersuchungen gezeigt haben, daß ihr Zellenbau von dem der Bakterien nicht wesentlich verschieden ist, so ist doch die Form der Zellen zum Teil eigenartig; das Vorhandensein von Schwefel und (bei der Mehrzahl) von Bacteriopurpurin läßt sie als eigene und zwar sehr scharf umschriebene Gruppe erkennen, die wohl nicht ohne weiteres zwischen die eigentlichen Bakterien verteilt werden kann.

Schließlich gibt es noch einige Organismen, die den Bakterien angehängt werden, weil man sie sonst nicht unterzubringen weiß, so *Achromatium oxaliferum*, das schon durch seine Riesendimensionen den Bakterien nicht nahe steht, *Spiromonas Cohnii* Warming, deren bandförmig flach gedrückte Zellen ebenfalls nicht zu dem sonstigen Bau der Bakterienzelle passen wollen. Auch Metschnikoff's *Pasteuria ramosa* ist hier zu nennen. Von Thaxter sind auch die Myxobakterien den eigentlichen Bakterien angegliedert worden, sicher mit Unrecht, es sind

wohl Symbiosen zwischen Pilzen und Bakterien. Ob GUIGNARD's *Streblothrichia Bornetii* ein *Bacterium* ist, dürfte noch sehr fraglich erscheinen.

Wenn wir von diesen zweifelhaften Formen absehen, so erscheinen die Bakterien trotz einzelner mehr isolierter Formen doch als eine ziemlich einheitliche Gruppe. Am nächsten stehen sie entschieden den 5 **Spaltalgen,** nicht bloß wegen der Form ihrer Zellen und Zellverbände, sondern auch wegen der Art der Zellteilung. Aber ebenso groß sind auch die Unterschiede zwischen beiden Gruppen. So ist ein gewaltiger Unterschied zwischen beiden im inneren Bau der Zellen gegeben; ein Zentralkörper, wie ihn die Spaltalgen besitzen, fehlt den Bakterien, wie jetzt wohl all- 10 gemein als sicher angenommen werden darf, vollständig. Die Endosporenbildung, die bei den Bakterien verbreitet ist und wohl unter entsprechenden Aenderungen der Kulturbedingungen noch weit allgemeiner nachgewiesen werden wird, fehlt den Spaltalgen, während umgekehrt die bei diesen vorkommenden Arthrosporen den Bakterien abgehen. Auch die 15 Beweglichkeit vieler Bakterien, die durch Geißeln vermittelt wird, ist in dieser Form den meisten Spaltalgen fremd. Die schwärmenden blaugrünen Algenzellen, die wiederholt beobachtet worden sind, dürfen in dieser Hinsicht als Ausnahmen gelten, außerdem ist man über ihre Zugehörigkeit völlig im Unklaren. Wo Bewegung bei den Spaltalgen vor- 20 kommt, wie bei *Oscillaria* und *Spirulina,* ist sie keine Geißelbewegung; wie sie zustande kommt, ist unbekannt. Auch hier existiert eine zweifelhafte Bakterienform, *Beggiatoa,* die sich hinsichtlich der Bewegung eng an *Oscillaria* anschließt aber im Bau des Protoplasten ebenso streng von ihr unterscheidet. Seitdem man aber bei Oscillarien 25 Schwefelkörner gefunden hat, eine Beobachtung, deren Bestätigung an umfangreicherem Material sehr wünschenswert wäre, ist auch in physiologischer Hinsicht eine Verwandtschaft zwischen beiden Gattungen erkennbar. Ueberhaupt neigen die höheren, fadenbildenden Bakterien noch mehr zu den Spaltalgen, schon durch die Scheidenbildung, die 30 ebenfalls vielen Spaltalgen eigen ist, ferner durch die Pseudodichotomie, wie sie einerseits bei *Cladothrix* andrerseits in ganz analoger Weise bei einer großen Anzahl Phycochromaceengattungen vorkommt.

Ein etwas unsicheres, wenn auch dafür um so augenfälligeres Merkmal ist der Phycochromgehalt der Spaltalgen. Daß die rein physio- 35 logische Leistung der Kohlensäureassimilation kein Unterscheidungsmerkmal abgeben kann, ist von vornherein klar. Außerdem gibt es nicht nur chlorophyllgrün gefärbte endospore Bakterien, deren Farbstoff vielleicht wirklich Chlorophyll ist und infolgedessen auch wohl bei der Kohlensäureassimilation dieser Organismen eine Rolle spielen wird, 40 sondern es sind auch chlorophyllfreie Bakterien gefunden worden, die die Fähigkeit Kohlensäure zu assimilieren besitzen. Wenn man nun zwar früher das Vorhandensein oder Fehlen des Phycochroms, weil man eben nur an dessen physiologische Bedeutung dachte, nicht als Grund zu einer größeren Trennung betrachtete, so wird man doch heute ganz 45 farblose Formen zweifellos nicht mehr den Spaltalgen einreihen. Dies ist früher mit zweifellosen Bakterien vielfach geschehen; so hat KÜTZING seine *Ulvina aceti,* das heutige *Bacterium aceti,* ohne weiteres den Algen zugerechnet. Unsicher bleibt das Merkmal des Phycochromgehaltes bis zu einem gewissen Grade deshalb, weil es bei den Schwefelbakterien 50 Farbennüancen gibt, die man ebenso gut als Phycochrom betrachten könnte, das ja auch die verschiedensten Farbentöne aufweist.

Die Bezeichnung der Bakterien als Spaltpilze, **Schizomyceten,** die

ihnen Nägeli gab, deutet schon diejenige Gruppe von Organismen an, mit denen man die Bakterien ebenfalls in verwandtschaftliche Beziehungen zu bringen suchte und zum Teil heute wieder bringt. Von manchen Forschern sind die Bakterien überhaupt nicht als selbständige Organismen angesehen worden, sondern, wie von Brefeld, als Entwicklungszustände höherer Pilze, die unter bestimmten Lebensbedingungen eine solche eigenartige und scheinbar selbständige Gruppe zu bilden imstande seien. Diese von Brefeld aber nur vermutungsweise ausgesprochene Möglichkeit hat nun mancher geglaubt beweisen zu können; die Versuche haben sich bei genauerer Prüfung aber stets als Irrtümer herausgestellt.

Die Verwandtschaft zwischen Pilzen und Bakterien ist nun zunächst in ihrem Mangel an Chlorophyll gegeben und damit in ihrer saprophytischen oder parasitischen Lebensweise. Der Mangel an Chlorophyll und die daraus abgeleitete Lebensweise ist aber ein so ausschließlich physiologisches Moment, daß es nicht als Merkmal der Verwandtschaft gelten kann. Es sind neuerdings auch farblose Diatomeen gefunden worden und die wird gewiß niemand zu den Pilzen stellen wollen.

Scheidende Momente zwischen **Pilzen** und **Bakterien** gibt es genug; in erster Linie die Art der Zellteilung, die sich, wie erwähnt, der der Spaltalgen anschließt. Indessen besitzen wir hier einen Uebergang zu den Sproßpilzen in der Gattung *Schizosaccharomyces*, deren Zellteilung sich in ähnlicher Weise vollzieht wie bei den Bakterien. Ich habe deshalb bereits früher (1) die Möglichkeit betont, daß die Bakterien durch die Gattung *Schizosaccharomyces* sich an die Sproßpilze anschließen, die auch ich für die niederste Form der Ascomycetenreihe halte. Auch die Endosporenbildung ist ein Vorgang, der bei Bakterien und Saccharomyceten eine gewisse Uebereinstimmung zeigt. Die Endosporenbildung von *Saccharomyces* wieder leitet zu der Ascosporenbildung der Ascomyceten über. So vertritt denn auch Arthur Meyer (1) die Ansicht, daß die Bakterien als unterstes Glied der Ascomycetenreihe zu deuten sind.

Ich kann mich dieser Auffassung nicht anschließen. Gewisse Verwandtschaftsbeziehungen zwischen beiden habe ich selbst hervorgehoben, aber die vorhandenen Verschiedenheiten sind doch zu groß, viel größer als zwischen Bakterien und Spaltalgen, und deshalb bin ich der Ansicht, daß die Vereinigung beider zur Gruppe der **Schizophyten** zunächst noch die natürlichste Lösung der Verwandtschaftsfrage ist. Als einen Unterschied zwischen Bakterien und Pilzen betrachte ich auch noch den Mangel eines Zellkernes bei ersteren, während Meyer der Ansicht ist, daß ein solcher bei ihnen existiert. Auch die Form der Geißelbewegung bei vielen Bakterien ist eine den Ascomyceten völlig fremde Eigenschaft.

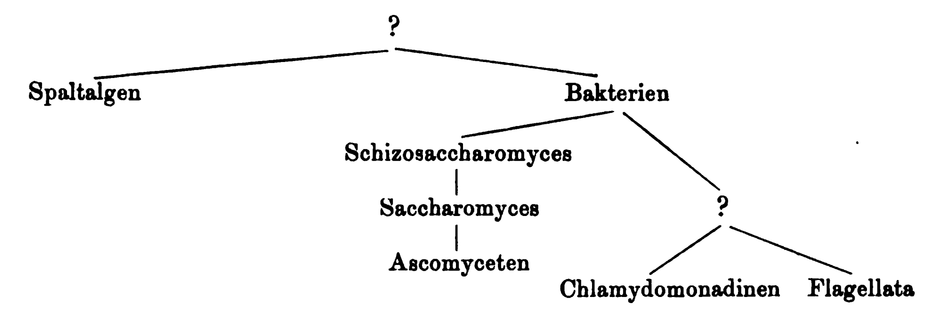
Gerade diese führt zu einer dritten Gruppe niederer Organismen, mit denen die Bakterien Berührungspunkte zeigen, zu den **Flagellaten,** und hier wieder zu denjenigen, die, wie *Polytoma uvella*, den Uebergang zu den Chlamydomonadinen und damit den Grünalgen vermitteln. Besonders nahe stehen die polar begeißelten Bakterien dieser Gruppe der Flagellaten. Die Geißeln sind für beide charakteristisch; auch die Membran ist in verschiedenen Uebergängen zwischen Bakterien und Flagellaten ausgebildet. Ist ja doch auch die Bakterienmembran keine typische Pflanzenzellhaut, sondern steht den Eiweißkörpern näher als der Cellulose. Die Endosporenbildung wieder findet ein Analogon in der Cystenbildung einiger Flagellaten, so der *Monas Guttula* und der

Chromulina nebulosa. Eine wesentliche Trennung zwischen beiden Gruppen wird aber durch den Bau des Protoplasten gegeben, der bei den Flagellaten einen typischen Zellkern und meist pulsierende Vakuolen, oft auch einen roten Augenfleck enthält, Organe, die den Bakterien abgehen.

So haben denn die Bakterien nach 3 Richtungen hin verwandtschaftliche Beziehungen, am meisten wohl zu den Spaltalgen, ferner zu den Pilzen und zwar zu der Ascomycetenreihe und drittens zu den Flagellaten und Chlamydomonadinen.

Nachdem durch WINOGRADSKY's Untersuchungen der Nachweis erbracht worden ist, daß es unter den Bakterien Organismen gibt, die imstande sind, Kohlensäure ohne Chlorophyll zu assimilieren, wird man die Bakterien als die tieferstehende, die Spaltalgen als die fortgeschrittenere Gruppe zu bezeichnen haben. Nicht nur daß bei den Spaltalgen der Protoplast eine viel größere Differenzierung zeigt, sondern es stellt sich auch die bei ihnen vorkommende Arthrosporenbildung als die phylogenetisch entwickeltere Form gegenüber der Endosporenbildung dar. Denn bei der Arthrosporenbildung werden neben vegetativen Zellen besondere fruktifikative gebildet, es findet also bereits eine Teilung in rein vegetative und in besondere der Fortpflanzung dienende Zellen statt, während bei der Endosporenbildung im allgemeinen alle Zellen sich in fruktifikative umwandeln.

Es wäre aber falsch, die Spaltalgen als direkte Abkömmlinge der Bakterien ansehen zu wollen, ebenso wie es falsch wäre, in den Bakterien die Urorganismen erblicken zu wollen. Dazu ist ihr Bau schon viel zu hoch differenziert. Aber beide haben wahrscheinlich die gleiche Abstammung von Organismen, die uns unbekannt sind und vielleicht längst nicht mehr existieren. Wollte man diese unsicheren Anhaltspunkte benützen, um einen Ausdruck für die mögliche Ableitung der niederen Organismen voneinander und für ihre gegenseitigen Beziehungen zu gewinnen, so würde sich etwa folgender Stammbaum ergeben



Dieser Stammbaum gibt natürlich nur eine Möglichkeit an, während tatsächlich auch noch andere Verwandtschaften und Ableitungen denkbar und bei weiterem Ausbau auch zu erwarten sind.

Die Annahme, daß die Bakterien phylogenetisch keine einheitliche Gruppe darstellen und daß etwa endospore und nicht endospore Arten in verschiedener Weise abzuleiten sind, entbehrt zurzeit jeder Stütze. Daß es sich bei den Bakterien mit um die niedrigsten bekannten Organismen handelt, ist zweifellos; ob man sie bei den Tieren oder Pflanzen unterbringen soll, ist zurzeit zugunsten der letzteren entschieden, wobei

aber nicht verkannt werden darf, daß sie auch zu den **Flagellaten**, die als die niedersten Tiere gelten, Beziehungen haben. Man hat auch, um den Schwierigkeiten zu entgehen, die sich bei der Zuteilung dieser niedersten Wesen zu dem Tier- oder Pflanzenreich ergeben, ein be-
5 sonderes Reich der **Protisten** gebildet, zu welchem dann Flagellaten, Radiolarien, Myxomyceten und Spaltpflanzen gehören würden. Dann aber wird die Schwierigkeit nur an eine andere Stelle verrückt und die Abgrenzung der höchsten Protisten gegenüber den niedersten echten Pflanzen und Tieren erschwert. Es ist deshalb das Einfachste, die Bak-
10 terien zusammen mit den Spaltalgen als **Schizophyta**, Spaltpflanzen, als die tiefste Entwicklungsstufe des Pflanzenreichs zu betrachten.

§ 33. Die Bakteriensysteme von O. F. Müller (1786), Ehrenberg (1838) und Perty (1852).

Die Bakterien wurden von ihrem Entdecker LEEUWENHOEK als
15 Tierchen betrachtet. Und auch von den späteren Forschern auf dem Gebiete der mikroskopischen Lebewesen wurden sie ohne weiteres dem Tierreich zugewiesen. Indessen vergingen von ihrer Entdeckung an mehr als hundert Jahre bis zu dem ersten Versuch einer Einteilung. Erst der dänische Zoologe O. F. MÜLLER (1) bringt sie in zwei Gattungen
20 *Monas* und *Vibrio* bei den Infusorien unter. Von der ersteren Gattung gibt er folgende Diagnose: „Vermis inconspicuus, simplicissimus, pellucidus, punctiformis", während er als *Vibrio* einen „Vermis inconspicuus simplicissimus teres elongatus" bezeichnet. *Monas* umfaßt bei ihm 10 Arten, von denen einige, z. B. *M. termo*, *punctum*, *tranquilla* u. a.,
25 als Bakterien gedeutet werden können, während andere als Hefezellen oder Grünalgen anzusehen sind. Manche Arten enthalten offenbar ganz heterogene Dinge, wenigstens nach den Abbildungen. So sind unter *Monas lens* Stäbchen und Kokken vereinigt. Die Gattung *Vibrio* umfaßt die Arten: *V. lineola*, *rugula*, *bacillus*, *undula*, *serpens*, *spirillum*,
30 welche nach den Zeichnungen sämtlich Bakterienformen repräsentieren. Allerdings ist es unmöglich, in ihnen bestimmte Arten suchen zu wollen; man kann höchstens erkennen, daß ein Teil zu den Stäbchen, ein Teil zu den Schraubenbakterien gehört. Die nahen Beziehungen dieser Organismen zu den Pflanzen erkennt MÜLLER zwar an, hält sie aber
35 für Tiere.

Einen Schritt weiter in der Systematik geht EHRENBERG (1), der zwar ebenfalls an der Tiernatur der Bakterien festhält, aber doch bereits die Notwendigkeit fühlt, dieselbe zu beweisen. Er deutet die geringen Differenzierungen, die in den größten Formen schon von ihm
40 beobachtet werden konnten, als Magenbläschen, Geschlechtsorgane, Eier, wie sie erst viel höher organisierten Tieren zukommen. Auf Grund dieser sehr willkürlichen Annahmen erscheinen ihm denn alle Protozoen, zu denen er auch die Bakterien rechnet, als hoch entwickelte Infusionstierchen. Er gibt seiner Anschauung über den Bau der fraglichen
45 Organismen auch in seinen Zeichnungen Ausdruck; sie überschreiten aber trotz ihrer vorzüglichen Ausführung offenbar vielfach das objektiv Wahrgenommene. Auch in der Deutung der Geißeln, die er zuerst bei einigen großen Bakterienformen wahrgenommen hatte, ist er nicht sehr glücklich gewesen; er faßt sie als „Rüssel" auf. Daß er bei den klein-

sten Formen keine Organe sehen konnte, erklärt er eben mit der Kleinheit der Wesen.

Die Infusorien teilt er in 22 Familien; von diesen enthalten die erste (*Monadina*), die zweite (*Cryptomonadina*) und die vierte (*Vibrionia*) Formen, die wir heute zu den Bakterien rechnen. In der ersten Familie sind sie in der Gattung *Monas* enthalten, die aber sehr heterogene Dinge umfaßt, die sich eben in andere Gattungen nicht unterbringen lassen. Die Gattungsbeschreibung würde wohl heute niemand als auf Bakterien passend ansehen, so sehr ist sie dem vermeintlichen Tiercharakter entsprechend gefaßt: „Das Geschlecht der eigentlichen Monaden unterscheidet sich von allen Formen der Familie durch Mangel an Schwanz, vorragende Lippe und Mangel an Augen, ferner durch solche Bewegung in der Richtung der Längsachse des Körpers, daß der Mund stets vorn bleibt, und durch Mangel des Zusammenhängens vieler Individuen in Form einer Beere.“ Indessen gehören als zweifellose Bakterien hierher *Monas Okenii*, *M. erubescens* und *M. vinosa*, dagegen erscheint *M. termo* nicht bakterienähnlich.

Zu den Cryptomonadinen rechnet Ehrenberg auch die Gattung *Ophidomonas*, ein olivbraun gefärbtes Schwefelspirillum, von dem er später eine gute Abbildung gibt. Er kennt 2 Arten *O. Jenensis* und die mehr rote *O. sanguinea*, die wir heute zu den Gattungen *Spirillum* resp. *Thiospirillum* stellen.

Die vierte Familie, die Zittertierchen oder *Vibrionia*, sind von besonderer Wichtigkeit, weil alle 5 Gattungen mit den 14 Arten sicher zu den Bakterien gehören. Die Beschreibung ist für die damaligen Verhältnisse eine außergewöhnlich scharfe und die Arten sind teilweise noch heute zu erkennen. Die Gattungsbeschreibungen sind noch heute von Bedeutung, weil sich aus ihnen, allerdings auf mancherlei Umwegen, die meisten unserer gegenwärtigen Familien- und Gattungsbeschreibungen entwickelt haben.

Die Gattung *Bacterium* umfaßt die Arten, welche „sich durch unbiegsame Form ihrer durch quere Selbstteilung entstandenen Gliederstäbchen unterscheiden“. Die 3 beschriebenen Arten sind heute nicht mehr zu erkennen. Die Gattung *Vibrio* „unterscheidet sich von allen verwandten Gattungen der Vibrionen durch eine aus unvollkommener Selbstteilung hervorgegangene fadenartige Kettenform mit schlangenähnlicher Biegsamkeit“. In der Schraubenbewegung erblickt Ehrenberg die schlangenartige Biegsamkeit der Zelle, eine Täuschung, die bei den unvollständigen Mikroskopen jener Zeit leicht begreiflich ist; dagegen hat er sie bei *Spirillum undula* richtig erkannt und beschrieben und er gründet darauf den Unterschied der Gattung *Spirillum* von *Vibrio*. Denn die Gattung *Spirillum* umfaßt die Formen, welche „spiralförmige und unbiegsame Ketten von zylindrischer Form oder Schraubenzylinder bilden“. Ebenso ist die Gattung *Spirochaete* ein verlängertes, biegsames *Spirillum*, eine gewundene, aber dabei biegsame Kettenform oder fadenartige Schraubenform. Die letzte Gattung, *Spirodiscus*, stellt eine „fadenartige Kettenform, welche unbiegsam ist und eine scheibenartige Spirale bildet“, dar. Er fand die einzige Art *Sp. fulvus* nur einmal in Gebirgswasser zwischen Conferven. Seit dieser Zeit ist ein ähnlicher Organismus nicht mehr gefunden worden.

In der Gattung *Vibrio* sind *V. lineola*, *tremulans*, *subtilis*, *rugula*, *prolifer* und *bacillus* Sammelspezies, aus denen heute zahlreiche andere ausgeschieden sind; nur die noch heute für bestimmte Arten oder

Gattungen (*Bacillus*) gebrauchten Namen haben noch Interesse. Die einzige Art der Gattung *Spirochaete, Sp. plicatilis*, ist heute noch sicher wiederzuerkennen. Ebenso sind die drei Arten der Gattung *Spirillum, Sp. tenue, undula* und *volutans*, nach Beschreibung und Abbildung wiederzuerkennen; allerdings ist das, was wir heute als *Sp. tenue* oder *Sp. undula* verstehen, auch nichts anderes als eine Sammelspezies.

Ehrenberg's Hauptverdienst besteht darin, daß er denjenigen Teil der Bakterien, für dessen morphologische Charakterisierung sein Mikroskop ausreichte, in eine Familie, die *Vibrionia*, zusammenfaßte und daß er so den Grund zu einer einheitlichen Auffassung der ganzen Pflanzengruppe legte.

Auch Dujardin (1) beschäftigt sich mit einer Einteilung der Bakterien, ohne indessen die Systematik derselben zu fördern. Er stellt nur 3 Gattungen auf: *Bacterium, Vibrio* und *Spirillum*, wirft also manches wieder zusammen, was Ehrenberg schon als verschieden erkannt und getrennt hatte. Insofern ist sein System ein Rückschritt.

Weit wichtiger ist die Arbeit Perty's (1), weil er der erste ist, der für die Diagnose der Gattungen schon entwicklungsgeschichtliche Charaktere verwendet und weil er das Vorhandensein von Sporen bei zweien seiner Gattungen erkannte. Er stellt 3 neue Gattungen auf, *Chromatium* mit den neuen Arten *Weissii* und *violascens*, zu denen er die Monasarten *Okenii, rosea, erubescens, vinosa* und einige andere bringt, ferner die Gattungen *Metallacter* und *Sporonema*. Auch die Aufstellung der Gattung *Chromatium* bedeutet einen Fortschritt, indem er aus dem Chaos der Gattung *Monas* eine Anzahl zusammengehöriger Arten aussonderte. Die Gattung *Metallacter* hat bereits in ihrer Diagnose sehr viel Aehnlichkeit mit der späteren Cohn'schen Gattung *Bacillus*. „Bakterienähnliche Einzelwesen verlängern sich durch fortgesetzte Teilung zu steifen oder wenig biegsamen Fäden, welche unter gewissen Umständen nach einiger Zeit die Bewegung verlieren, ungemein wachsen und einer *Hygrocrocis* ähnlich werden, indem sie aus längeren, verfilzten, flockige farblose oder grauliche Massen darstellenden Fäden bestehen." Der Ehrenberg'sche *Vibrio subtilis* wird zu dieser Gattung gestellt. Die Gattung *Sporonema* beschreibt er: „Ein äußerst kleiner, zylindrischer, ungegliederter, hohler Faden schließt an einem Ende (selten an beiden) entweder ein oder manchmal auch zwei elliptische Körperchen (wohl Sporen) ein." Auch die Abbildung, die er dazu gibt, läßt die Sporennatur dieser Körperchen außer Zweifel. Uebrigens betont Perty für diesen Organismus, daß er wohl besser zu den Algen zu stellen wäre.

Für Perty's Auffassung des Charakters jener Organismen, denen er auch die Bakterien einreiht, ist schon der von ihm gegebene Gruppenname „*Phytozoidia*" charakteristisch; er stellt diese „Pflanzentiere" zwar noch zu den Tieren, läßt aber die Möglichkeit zu, dieselben auch im Pflanzenreich unterzubringen.

§ 34. Das System von F. Cohn (1872 und 1875).

Die Grundlage der jetzt geltenden Bakteriensysteme wurde aber erst von F. Cohn in einer Reihe von Arbeiten geschaffen, die nach jeder Richtung hin bahnbrechend waren und namentlich für die Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Systematik den Beginn eines neuen Abschnittes in der Geschichte der Bakterienforschung bezeichnen. In

einer ersten Arbeit (1) stellt er die Gattung *Zoogloea* auf, die dadurch charakterisiert ist, daß die stäbchenförmigen Zellen durch farblose Gallerte in schleimige Klumpen zusammengehalten werden, aus denen einzelne sich loslösen und fortschwimmen. Seine Gattung ist nach unseren heutigen Anschauungen eine Wuchsform sehr verschiedener Gattungen, wesentlich durch Ernährungsverhältnisse bedingt. Er zieht *Bacterium termo* Duj. als beweglichen Zustand zu seiner Gattung *Zoogloea*. Schon in dieser Arbeit sprach Cohn seine Ansicht bezüglich der Stellung der „*Vibrionia*“ dahin aus, daß sie sämtlich ins Pflanzenreich zu gehören scheinen wegen ihrer zweifellosen Verwandtschaft mit offenbaren Algen. So stellt er seine Gattung *Zoogloea* als Parallelform zu *Palmella* und *Tetraspora*, dann die langen, sich nicht schlängelnden Vibrionien als solche von *Beggiatoa* hin, und von den kürzeren Vibrionien und Spirillen betont er ihre Aehnlichkeit mit Oscillarien und Spirulinen.

Eine allgemeine Bezeichnung für die Gruppe von Organismen, die wir heute Bakterien nennen, war damals nicht vorhanden, wie sie ja überhaupt vielfach noch gar nicht zusammengestellt sondern zwischen Algen und Flagellaten in verschiedenen Familien verteilt waren. Auch Nägeli (1) bezeichnet mit dem Namen **Schizomycetes** nicht bloß Bakterien sondern auch noch andere Dinge, wie *Nosema bombycis*. Er weiß aber nicht einmal, ob es Pflanzen oder Tiere oder krankhaft veränderte tierische oder pflanzliche Elementarteile seien. Den Namen **Bakterien** wendete Cohn (2) zum erstenmal als gemeinsame Bezeichnung für diejenigen Organismen an, die wir auch heute noch darunter verstehen, wenn er auch einige Gattungen zunächst noch davon ausschloß und zu den Algen stellte.

Zwischen Cohn's erster und seinen nächsten für die Bakteriologie besonders wichtigen Arbeiten lag eine Periode, in welcher die Bakteriologie auf Abwege geraten war; namentlich wurde davon die Systematik betroffen. Die Lehre von einem schrankenlosen Pleomorphismus, die Negierung distinkter Arten, endlich auch die Annahme eines Zusammenhanges der Bakterien mit anderen Organismen, namentlich Pilzen, brachte eine unglaubliche Verwirrung in die Bakteriologie. Das Wenige, was man bis dahin mit Mühe als richtig erkannt hatte, geriet in Gefahr, verloren zu gehen. Die Arbeiten von Johanna Lüders, Hallier, Nägeli und Klebs sind, soweit sie heut noch allgemeineres Interesse in bezug auf die Auffassung von der Konstanz der Arten haben, bereits im 1. Kapitel besprochen worden; ein positiver Fortschritt irgendwelcher Art ist aus ihnen für die Systematik nicht entstanden. Auch Billroth (1) steht in seiner großen Arbeit über die *Coccobacteria septica* vollständig auf dem Boden eines schrankenlosen Pleomorphismus, aber er kann für sich wenigstens das Verdienst in Anspruch nehmen, daß er für die Kenntnis der Form der Bakterien Außerordentliches geleistet hat. Wenn er auch glaubt, daß diese Formen ineinander übergehen, so hält er sie doch in seinen Beschreibungen auseinander und gibt für einzelne Merkmale an, die später als Gattungscharaktere aufgenommen wurden. So ist die Gattung *Streptococcus* eine von ihm beobachtete Form der *Coccobacteria*, durch perlschnurartige Aneinanderreihung der kugeligen Teilungsprodukte entstanden.

Nach einer für die Fortentwicklung der Systematik weniger wichtigen Arbeit über den Brunnenfaden bringt Cohn (2) zunächst in groben Umrissen eine Zusammenfassung und Einteilung der Bakterien. Er gliedert sie folgendermaßen:

Tribus I: *Sphaerobacteria* **(Kugelbakterien).**
  Gattung 1: ***Micrococcus*** *char. emend.*
Tribus II: *Microbacteria* **(Stäbchenbakterien).**
  Gattung 2: ***Bacterium*** *char. emend.*
Tribus III: *Desmobacteria* **(Fadenbakterien).**
  Gattung 3: *Bacillus n. g.*
  Gattung 4: *Vibrio char. emend.*
Tribus IV: *Spirobacteria* **(Schraubenbakterien).**
  Gattung 5: *Spirillum* **EHRENBERG.**
  Gattung 6: *Spirochaete* **EHRENBERG.**

Diese Einteilung COHN's ist für die Systematik von grundlegender Bedeutung geworden, schon deshalb, weil die Bakterien hier zum erstenmal als eine zusammengehörige Gruppe von den übrigen niederen Organismen gesondert und neben die Spaltalgen gestellt werden. Aber auch in der Beschreibung der Familien, Gattungen und Arten wird ein großer Fortschritt gewonnen.

Die *Sphaerobacteria* mit der einzigen Gattung *Micrococcus* sind kleine, kugelige oder ovale, unbewegliche Zellen; er teilt sie weiter in zymogene, chromogene und pathogene und führt eine Anzahl Arten besonders an. Die *Microbacteria* besitzen stäbchenförmige Zellen, die jedoch nicht das Vermögen haben, zu Fäden auszuwachsen. Zu der einzigen Gattung *Bacterium* werden nur zwei Arten, *B. termo* und *B. lineola* gerechnet. Die dritte Gruppe, *Desmobacteria*, hat ebenfalls stäbchenförmige Zellen, die jedoch im Gegensatz zu den *Microbacteria* zu langen Fäden auswachsen können. Die Stäbchen der Gattung *Bacillus* mit *B. subtilis*, *B. anthracis* und *B. ulna* sind gerade, diejenigen der Gattung *Vibrio*, mit den Arten *V. rugula* und *V. serpens*, sind wellig gebogen. Die *Spirobacteria* besitzen schraubig gekrümmten Zellkörper und zwar ist derselbe bei *Spirillum* starr, kurz weitläufig, bei *Spirochaete* flexil, lang und eng gewunden. Zwischen *Vibrio* und den *Spirobacteria* besteht nach COHN der Unterschied, daß erstere Gattung nur wellig gebogene, letztere Familie schraubenförmig gekrümmte Zellen besitzt, ein Unterschied, der allerdings nicht existiert, denn auch die Arten der Gattung *Vibrio* haben schraubig gekrümmte Zellen.

Diejenigen Organismen, die man heute als Fadenbakterien oder, da das Charakteristische aller Arten in der Scheide liegt, besser als Scheidenbakterien bezeichnet, wurden von COHN nicht in sein System der Bakterien aufgenommen, weil er sie, ebenso wie *Beggiatoa* und wohl auch *Sarcina*, für näher verwandt mit den Spaltalgen hielt. Ueberhaupt verweist er die Bakterien als erster mit Entschiedenheit aus ihrer bisherigen Stellung unter den niederen Tieren zu den Pflanzen und zwar zu den Algen; sie bilden die erste Familie der *Schizosporeae*, deren übrige die Spaltalgen einnehmen.

Dieses zunächst nur in seinen Grundzügen gegebene System, führte er in einer späteren Arbeit (3) in der Weise durch, daß er Bakterien und Spaltalgen in eine Gruppe **Schizophytae** vereinigte und ohne Rücksicht auf Vorhandensein oder Fehlen von Phycochrom nach äußeren Merkmalen gliederte. So entstand ein System, welches uns heute zwar fremdartig erscheint und in dieser Form längst aufgegeben ist, für jene Zeit aber seine volle Berechtigung hatte und durch die nahen Beziehungen, in welche die Bakterien zu den Spaltalgen gebracht wurden, für die Erkenntnis beider Gruppen von größter Wichtigkeit geworden ist:

Cohn's System der Schizophytae.

Tribus I: Gloegenae.

Zellen frei oder durch Intercellularsubstanz zu Schleimfamilien vereinigt.

A. Zellen frei oder binär oder quaternär verbunden.

Zellen kugelig . . . . *Chroococcus* Näg.
Zellen zylindrisch . . . . *Synechococcus* Näg.

B. Zellen im Ruhezustand zu amorphen Schleimfamilien vereinigt.

a) Die Zellmembranen mit der Intercellularsubstanz zusammenfließend.

0. Zellen nicht phycochromhaltig, sehr klein.
Zellen kugelig . . . . *Micrococcus* Hall.
Zellen zylindrisch . . . . *Bacterium*.
00. Zellen phycochromhaltig, größer.
Zellen kugelig . . . . *Aphanocapsa* Näg.
Zellen zylindrisch . . . . *Aphanothece* Näg.

b) Intercellularsubstanz aus ineinandergeschachtelten Zellhäuten gebildet.

Zellen kugelig . . . . *Gloeocapsa* Ktg. Näg.
Zellen zylindrisch . . . . *Gloeothece* Näg.

C. Zellen zu begrenzten Schleimfamilien vereinigt.

c) Zellfamilien einschichtig, in eine Zellfläche gelagert.

0. Zellen quarternär geordnet, in einer Ebene . . . *Merismopedia* Meyen.
00. Zellen ungeordnet in eine Kugelfläche gelagert.
Zellen kugelig, Familien netzförmig durchbrochen . *Clathrocystis* Henfr.
Zellen zylindrisch-keilförmig; Familien durch Furchung geteilt . . . . *Coelosphaerium* Näg.

d) Zellfamilien mehrschichtig, zu sphäroidischen Zellkörpern vereinigt.

0. Zellenzahl bestimmt.
Zellen kugelig, quaternär geordnet, farblos . . . *Sarcina* Goods.
Zellen zylindrisch-keilförmig, ungeordnet, phycochromhaltig . . . . *Gomphosphaeria* Ktg.
00. Zellenzahl unbestimmt, sehr groß.
Zellen farblos, sehr klein . . . . *Ascococcus* Billr. emend.
Zellen phycochromhaltig, größer . . . . *Polycystis* Ktg., *Coccochloris* Spr., *Polyococcus* Ktg.

Tribus II: Nematogenae Rabenh.

Zellen in Fäden geordnet.

A. Zellfäden stets unverzweigt.

a) Zellfäden frei oder verfilzt.

0. Fäden zylindrisch, farblos, undeutlich gegliedert.
Fäden sehr dünn, kurz . . . . *Bacillus* Cohn.
Fäden sehr dünn, lang . . . . *Leptothrix* Ktg. emend.
Fäden stärker, lang . . . . *Beggiatoa* Trev.
00. Fäden zylindrisch, phycochromhaltig, deutlich gegliedert, Fortpflanzungszellen nicht bekannt . . *Hypheotrix* Ktg., *Oscillaria* Bosc.
000. Fäden zylindrisch, gegliedert, Gonidien bildend.
Fäden farblos . . . . *Crenothrix* Cohn.
Fäden phycochromhaltig . . . . *Chamaesiphon* u. a.
0000. Fäden schraubenförmig
ohne Phycochrom:
Fäden kurz, schwachwellig . . . . *Vibrio* Ehr. em.
Fäden kurz, spiralig, starr . . . . *Spirillum* Ehr.
Fäden lang, spiralig, flexil . . . . *Spirochaete* Ehr.

phycochromhaltig:
Fäden lang, spiralig, flexil . . . . *Spirulina* LINK.
00000. Fäden rosenkranzförmig.
Fäden ohne Phycochrom . . . . *Streptococcus* BILLR.
5 Fäden phycochromhaltig . . . . *Anabaena* BORY, *Spermosira* KG. u. a.
000000. Fäden peitschenförmig nach der Spitze verjüngt . *Mastigothrix* u. a.

b) Zellen durch Intercellularsubstanz zu Schleimfamilien vereinigt.
0. Fäden zylindrisch, farblos . . . . *Myconostoc* COHN.
10 00. Fäden zylindrisch, phycochromhaltig . . . . . . *Chthonoplastus*, *Limnochlide* u. a.
000. Fäden rosenkranzförmig . . . . *Nostoc*, *Hormosiphon* u. a.
0000. Fäden peitschenförmig nach der Spitze verjüngt . *Rivularia* ROTH, *Zonotrichia* u. a.

15 B. Zellfäden durch falsche Astbildung verzweigt.
0. Fäden zylindrisch, farblos . . . . *Cladothrix* COHN, *Streptothrix?*
00. Fäden zylindrisch, phycochromhaltig . . . . . . *Calothrix* AG., *Scytonema* AG. u. a.
20 000. Fäden rosenkranzförmig . . . . *Merizomyria* KG., *Mastigocladus* COHN.
0000. Fäden peitschenförmig nach der Spitze verjüngt . *Schizosiphon* KG., *Geocyclus* KG.

Als neue Gattungen werden in diesem System, soweit es sich um 25 Bakterien handelt, *Ascococcus*, *Streptococcus*, *Myconostoc* und *Cladothrix* aufgenommen; die beiden ersteren, von BILLROTH als Wuchsformen bezeichnet, werden zu Gattungen erhoben.

COHN ging bei der Aufstellung dieses Systems von dem Gedanken aus, daß der Mangel oder das Vorhandensein von Phycochrom nur als 30 ein physiologisches Moment zu betrachten sei und physiologische Eigenschaften zur Systematik nicht verwendet werden dürften. So richtig die letztere Auffassung nun auch ist, muß man doch zugeben, daß das Vorhandensein oder Fehlen des Phycochroms nicht ohne weiteres bloß als physiologisches Merkmal bezeichnet werden darf; es ist damit das Vor-35 handensein oder Fehlen eines Zellbestandteiles bezeichnet und bei dem Gewicht, welches für die Systematik auch auf den Bau der Zelle gelegt werden muß, wenigstens bei den niederen Organismen, wurde damit von COHN auf ein Merkmal verzichtet, welches in einfachster Weise eine Unterscheidung von Organismen zuläßt, die wohl Verwandtschaft 40 besitzen, aber doch nicht in der angegebenen Weise zu vereinigen sind.

Noch eine Arbeit COHN's (4) ist für die Entwicklung der Systematik von Bedeutung, nämlich seine Beobachtung der Sporenbildung und Sporenkeimung bei *Bacillus subtilis*. Er spricht dabei die Vermutung aus, daß möglicherweise alle Arten der Gattung *Bacillus* Sporen 45 bilden könnten und daß diese Fähigkeit vielleicht mit als Merkmal der Gattung zu bezeichnen sei.

Als COHN sein Bakteriensystem veröffentlichte, war die Zahl der bekannten Arten gering und sie ließen sich leicht in den Rahmen dieses Systems unterbringen, um so leichter als Gattungen und Arten der 50 Hauptsache nach auf Merkmale der äußeren Gestalt begründet waren. Deshalb haben spätere Bakteriologen, auch HUEPPE, angenommen, COHN's Gattungen und Arten sollten auch, ohne Rücksicht auf ihren naturhistorischen Wert, reine Form-Genera und Form-Arten sein. Das ist aber nicht der Fall gewesen; er betrachtete seine Arten und Gattungen 55 als natürliche, nur mit der Einschränkung, daß ihre Diagnosen, dem

derzeitigen Stande der Kenntnis entsprechend, lückenhaft, unvollständig und ergänzungsbedürftig seien. In der Tat sind COHN's Arten zumeist Sammelspezies gewesen, aus denen sich nach und nach mit der fortschreitenden Kenntnis immer neue abgezweigt haben, und die Diagnosen seiner Gattungen haben sich merklich geändert. So haben sich im Lauf 5 der Zeit so viele Bakterien gefunden, die an der Grenze zwischen *Micrococcus* (Zellen rundlich oder oval) und *Bacterium* (Zellen zylindrisch) stehen, daß sie mit gleichem Recht dieser oder jener Gattung zugesprochen werden konnten; eine schärfere Abgrenzung beider Gattungen war deshalb unerläßlich. Ebenso zeigte sich die quaternäre Zellanord- 10 nung bei *Sarcina* als ein oft nur zufälliges, durch Ernährungsverhältnisse bedingtes Merkmal, während ihr eigentliches Charakteristikum in der regelmäßigen Teilung nach drei Richtungen des Raumes besteht. Auch die Gallertbildungen mancher Bakterien, wie bei *Ascococcus, Myconostoc* und dem später von VAN TIEGHEM aufgestellten *Leuconostoc*, sind nur 15 sekundäre, durch bestimmte Ernährungsbedingungen veranlaßte Erscheinungen, die deshalb zur Begründung von Gattungen nicht hinreichen. Wie zwischen *Micrococcus* und *Bacterium* verwischte sich auch die Grenze zwischen dieser Gattung und *Bacillus* mit der wachsenden Zahl der aufgefundenen Arten; auch hier mußte eine schärfere Fassung 20 des Gattungscharakters Platz greifen. Ganz unhaltbar war die Gattung *Vibrio* in der COHN'schen Fassung, als sich herausstellte, daß die welligen Biegungen in der Tat nichts anderes als sehr flache Schraubenwindungen sind, ein prinzipieller Unterschied gegenüber *Spirillum* also nicht besteht.

§ 35. Die Systeme von W. Zopf, van Tieghem, de Bary und F. Hueppe. 25

COHN's Bakteriensystem wurde zu einer Zeit veröffentlicht, als die NÄGELI-BILLROTH'sche Auffassung von der Inkonstanz der Spaltpilzformen allgemeine Verbreitung gefunden hatte. Es war daher begreiflich, daß sich gegen dieses auf die Konstanz der Bakterienform 30 gegründete System Stimmen erheben würden. Gerade gegen die Konstanz der Form glaubte man mit Recht Einwände geltend machen zu dürfen, während man daneben das Vorhandensein spezifisch verschiedener Arten meist zugab. Auf diesem Boden standen LISTER (1), RAY LANKESTER (1) und besonders ZOPF. 35

Die Schwierigkeiten, die sich für die Systematik daraus ergaben, daß man einen weitgehenden Pleomorphismus, eine fast unbeschränkte Veränderlichkeit aller morphologischen Merkmale neben dem Vorhandensein verschiedener Arten annahm, suchte zuerst ZOPF (1) zu lösen. In der ersten Auflage spricht er dem COHN'schen System nur noch histo- 40 rischen Wert zu und faßt dessen Gattungen nur als Entwicklungsformen auf. Arten, bei denen nur eine Form vorkam, waren „unvollständig bekannt". So kommt er zu folgender Aufstellung:

System von Zopf.

1. Coccaceen. Sie besitzen nur die Kokken- und die durch Aneinanderreihung von 45 Kokken entstandene Fadenform.
   Genus: *Leuconostoc.*
2. Bacteriaceen. Sie weisen 4 Entwicklungsformen auf: Kokken, Kurzstäbchen (Bakterien), Langstäbchen (Bazillen) und Fäden (Leptothrixform). Letztere besitzen keinen Gegensatz von Basis und Spitze. Typische Schraubenformen fehlen. 50
   Genera: *Bacterium, Clostridium.*

3. Leptothricheen. Sie besitzen Kokken-, Stäbchen-, Fadenformen, welche einen Gegensatz von Basis und Spitze zeigen und Schraubenformen.
Genera: *Leptothrix*, *Beggiatoa*, *Crenothrix*, *Phragmidiothrix*.

4. Cladothricheen. Sie zeigen Kokken-, Stäbchen-, Faden- und Schraubenformen.
5 Die Fadenform ist mit Pseudoverzweigungen versehen.
Genus: *Cladothrix*.

In der dritten Auflage (2) ist sein System schon wesentlich modifiziert und schließt sich dem COHN'schen offenbar mehr an, wenn man von seinen pleomorphistischen Grundlagen absieht. Die Familien sind 10 ausführlicher charakterisiert und unter den Gattungen kommen auch die COHN'schen z. T. wieder in Geltung. So umfassen die Coccaceen jetzt: *Streptococcus*, *Merismopedia*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Ascococcus*, die Bacteriaceen: *Bacterium*, *Spirillum*, *Vibrio*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Clostridium*. Die Gattungsdiagnosen sind freilich geändert. So heißt 15 es von *Spirillum*: Fäden schraubig, nur aus Stäbchen (längeren oder kürzeren) oder aus Stäbchen und Kokken gebildet. Sporenbildung fehlend oder unbekannt. Bei *Vibrio*: Fäden schraubig, in den längeren oder kürzeren Gliedern Sporenbildung. Für *Leuconostoc* wird die Bildung von Kokken und Stäbchen angenommen.

20 Der Fortschritt in dem System zwischen der ersten und der dritten Auflage ist unverkennbar; insbesondere sind auch einzelne Gattungen richtiger und schärfer gefaßt, abgesehen von der überall (wenn auch bereits in sehr viel geringerem Grade) sich bemerklich machenden pleomorphistischen Anschauung. ZOPF's System war für jene Zeit insofern 25 von großem Werte, als es der damals herrschenden Anschauung von der Inkonstanz der Formen hinreichend Rechnung trug, aber an dem Vorhandensein distinkter Arten festhielt. Dadurch wurde der von NÄGELI, BILLROTH und H. BUCHNER vertretenen Lehre von der Inkonstanz der Arten, die eine unsägliche Verwirrung, auch auf praktischem Gebiet, 30 anzurichten drohte, ein wirksamer Damm entgegengestellt und das allmähliche Einlenken der bakteriologischen Forschung in natürlichere Bahnen eingeleitet.

Die nächsten beiden systematischen Behandlungen der Bakterien von WINTER (1) und FLÜGGE bringen nichts wesentlich Neues und 35 schließen sich eng an das COHN'sche System an. WINTER ist in seiner Behandlung aber sehr hinter der Zeit zurückgeblieben, während FLÜGGE auch die nichtpathogenen Arten ziemlich vollständig berücksichtigt. Erst SCHROETER (1) sucht eine Fortentwicklung des COHN'schen Systems anzubahnen, indem er teilweise auch die von DE BARY herrührende und 40 später zu besprechende Einteilung in endospore und arthrospore Bakterien mit benützt. Er teilt die Bakterien in *Coccobacteria*, *Eubacteria* und *Desmobacteria*. Die *Coccobacteria* umfassen die Arten mit kugeligen oder kugelig-elliptischen, unbeweglichen Zellen, bei denen Sporen, wenn vorhanden, durch Umbildung einer ganzen Zelle entstehen. Die *Eu-* 45 *bacteria* umfassen die Formen mit kürzer oder länger stäbchenförmigen Zellen. Innerhalb dieser Ordnung werden einzelne Gattungen nach der Art der Sporenbildung (endogene oder Arthrosporenbildung) unterschieden. Unter *Desmobacteria* faßt er im Gegensatz zu COHN *Cladothrix*, *Leptothrix* usw. auf, also Formen, die COHN ursprünglich zu den Spalt- 50 algen gestellt hatte.

Ganz verworren und unnatürlich ist das von DE TONI und TREVISAN (1) aufgestellte Bakteriensystem. Es kann, da es auf die Weiterentwicklung der Bakteriensystematik ohne jeden Einfluß geblieben ist, hier vollständig übergangen werden.

Ein gänzlich neues Prinzip, wurde durch van Tieghem, de Bary und Hueppe in die Bakteriensystematik getragen, indem sie die Merkmale der Fruktifikation zur Grundlage der Einteilung zu machen versuchten. Der Gedanke hat zweifellos etwas Bestechendes für jeden Systematiker, der bei anderen Organismen gewohnt ist, die Hauptmerkmale den Charakteren der Fortpflanzung zu entnehmen. 5

Zuerst machte van Tieghem auf den Unterschied in der Sporenbildung von Bakterien und Spaltalgen aufmerksam (1) und stellte in konsequenter Durchführung dieses Einteilungsprinzipes alle Formen mit Endosporen zu den Bakterien, alle nicht endosporenbildenden zu den 10 Spaltalgen. Später zieht er (2) allerdings auch *Leuconostoc* und *Beggiatoa* wieder zu den Bakterien, ohne jedoch eine Motivierung dieser Umstellung zu geben.

de Bary (1) führte die von van Tieghem nur berührte Einteilung für die Bakterien streng durch; er sondert sie in zwei große Gruppen, 15 endospore und arthrospore, und stellt alle nicht Endosporen bildenden Arten zu den letzteren. In den Mikrokokken sieht er die einfachsten Formen dieser Reihe; bei ihnen ist „ein Unterschied zwischen spezifisch reproduktiven Sporen und vegetativen Zellen nicht vorhanden". Im übrigen lehnt er sich eng an das Cohn'sche System an und nimmt namentlich 20 dessen Gattungen auf, indem er die nicht endosporenbildenden Stäbchen als *Arthrobacterium* ausscheidet. Daß man auch die Gonidienbildung als Arthrosporen auffaßte und auch die am Schluß einer Vegetationsperiode auftretenden kurzen Glieder als Arthrosporen in Anspruch nahm, wurde schon in einem früheren Kapitel besprochen. 25

Am weitesten geht Hueppe (1) in der Ausbildung dieses Systems auf Grundlage von Endo- und Arthrosporenbildung. Aber eben weil er am weitesten geht, zeigt sich in seinem System auch bereits, zu welch unnatürlicher Einteilung man bei konsequenter Durchführung dieses Prinzipes kommt: 30

System von Hueppe.

A. Bakterien mit Bildung endogener Sporen.

I. Gattung: Coccaceen?
Untergattung 1: *Streptococcus?*
" 2: *Leuconostoc?* 35
II. Gattung: Bacteriaceen.
Untergattung 1: *Bacillus.*
" 2: *Clostridium.*
III. Gattung: Spirobacteriaceen.
Untergattung 1: *Vibrio* 40
" 2: *Spirillum.*

B. Bakterien mit Bildung von Arthrosporen inkl. der Bakterien, deren Fruktifikation unbekannt ist.

I. Gattung: Arthro-Coccaceen.
Untergattung 1: *Arthro-Streptococcus.* 45
" 2: *Leuconostoc.*
" 3: *Merista.*
" 4: *Sarcina.*
" 5: *Micrococcus.*
" 6: *Ascococcus.* 50
II. Gattung: Arthro-Bacteriaceen.
Untergattung 1: *Arthrobacterium.*
" 2: *Spirulina.*
III. Gattung: Arthro-Spirobacteriaceen.
Untergattung 1: *Spirochaete.* 55

IV. Gattung: Leptothricheen.
Untergattung 1: *Leptothrix.*
„ 2: *Crenothrix.*
„ 3: *Beggiatoa.*
„ 4: *Phragmidiothrix.*
V. Gattung: Cladothricheen.
Gattung: *Cladothrix.*

Warum Hueppe auf einmal das, was man bisher in ganz natürlicher Weise als Familien bezeichnet hatte, als Gattung (aber mit unmöglicher Endung) aufstellt, ist nicht recht ersichtlich. Sein System zeigt bereits dem flüchtigen Blick, daß eine Anzahl Gattungen in beiden Reihen wiederkehren, daß aber noch mehr Teilungen vorgenommen werden müßten, wenn neuere Beobachtungen dabei verwertet werden sollten. So müßte die Gattung *Sarcina* als *Arthro-Sarcina* und *Sarcina, Spirillum* als *Arthro-Spirillum* und *Spirillum,* ja selbst *Micrococcus* als *Arthro-Micrococcus* und *Micrococcus* teils der arthrosporen, teils der endosporen Reihe überwiesen werden. Es würde zu einer Zerreißung offenbar natürlicher Gattungen und einem einzigen Merkmal zuliebe zu einem durchaus künstlichen System kommen. Hueppe selbst hat wohl die Unhaltbarkeit einer derartigen schematischen Einteilung eingesehen und ist in der 5. Auflage seiner „Methoden" (2) wieder davon abgegangen, wenigstens benutzt er das Vorkommen oder Fehlen der Endosporen nicht mehr zur Trennung der Bakterien in zwei Reihen sondern nur zur Unterscheidung der Gattungen. Bedenklich wird allerdings dadurch der Charakter derselben geändert. So enthält unter den Schraubenbakterien *Spirillum* diejenigen Formen, welche Endosporen bilden, *Spirochaete* die ohne Endosporenbildung. Ebenso ist das Verhältnis zwischen *Bacillus* und *Bacterium.* Für die Schraubenbakterien ist diese Trennung aber geradezu verhängnisvoll; denn die natürliche Unterscheidung zwischen den mit flexilen Körpern ausgestatteten Spirochaeten und den starren Schrauben der Gattung *Spirillum* wird dabei ganz ignoriert und ein Unterschied geschaffen, den man nur bei einer verschwindend geringen Zahl feststellen konnte, wenn er überhaupt existierte. Alle bisherigen Angehörigen der Gattung *Spirillum* mit wenigen Ausnahmen müßten zu *Spirochaete* versetzt werden. Streng führt Hueppe übrigens auch diese Einteilung nicht mehr durch, denn für *Sarcina* gibt er an: mit Endosporen, auch ohne Endosporen. In seinem neuesten Werk behält er (3) diese Einteilung noch bei.

§ 36. Das System von Alfred Fischer.

Je mehr sich die Ueberzeugung Bahn brach, daß man bei den Bakterien eine andere Form der Sporenbildung als die der Endosporen nicht auffinden konnte, und daß Endosporen in den meisten Gattungen gebildet wurden, um so mehr verlor das de Bary-Hueppe'sche System seine natürliche Grundlage und um so mehr mußte es als ein künstliches erscheinen. Zu einer weiteren Gliederung und schärferen Fassung der Gattungsdiagnosen mußte man aber bei der Unmenge neu aufgefundener Arten zu gelangen suchen, weil sonst jeder Ueberblick zu schwinden drohte. Einteilungen, wie sie Eisenberg (1) in seiner bekannten Diagnostik gegeben hatte, waren zwar als Schlüssel zur Auffindung und Bestimmung von Arten verwendbar, brachten aber für die Systematik, da sie sich an physiologische Merkmale hielten und die

Gattungscharaktere nicht berücksichtigten, keinerlei Fortschritt. In ganz ähnlicher Weise ist die Diagnostik von MATZUSCHITA (1) gehalten. Ebenso ist das System MIQUEL's (1) für die Systematik ohne Bedeutung; es mag aber zur praktischen Arbeit für die Auffindung von Arten 5 ganz brauchbar sein.

Erst von ALFRED FISCHER (1) und mir (1) wurden Versuche zur Fortentwicklung des Bakteriensystems auf natürlicher Grundlage gemacht. FISCHER hat sein zuerst 1895 veröffentlichtes System in seiner letzten Arbeit (2) im Jahre 1903 folgendermaßen gestaltet: 10

1. Ordnung: **Haplobacterinae.**

Vegetationskörper einzellig, kugelig, zylindrisch oder schraubig, einzeln oder zu unverzweigten Ketten und anderen Wuchsformen vereinigt.

1. Familie: **Coccaceae,** Kugelbakterien.
Vegetationskörper kugelig. 15
1. Unterfamilie: Allococcaceae.
Mit beliebig in den drei Richtungen des Raumes wechselnder Teilungsfolge, keine scharf ausgeprägten Wuchsformen, bald kurze Ketten, bald traubige Häufchen, bald paarweise, bald einzeln.
1. Gattung: *Micrococcus* COHN. Unbeweglich. 20
2. Gattung: *Planococcus* MIGULA. Beweglich.
2. Unterfamilie: Homococcaceae.
Mit bestimmter für jede Gattung typischer Teilungsfolge.
3. Gattung: *Sarcina* GOODSIR. Die Teilungswände folgen sich in den 3 Richtungen des Raumes, es entstehen paketartige Wuchsformen, da- 25 neben Einzelkokken, Tetrakokken, aber keine Ketten; unbeweglich.
4. Gattung: *Planosarcina* MIGULA, wie die vorige aber beweglich, monotrich begeißelt.
5. Gattung: *Pediococcus* LINDNER. Teilungswände kreuzweise in den beiden Richtungen der Ebene abwechselnd, Zellen zu 4 oder zu Täfelchen zu- 30 sammengelagert oder einzeln, keine Ketten bildend.
6. Gattung: *Streptococcus* (BILLROTH). Teilungswände immer parallel, nur in derselben Richtung; Wuchs in Ketten, Pärchen und einzeln, keine Täfelchen, keine Pakete.
2. Familie: **Bacillaceae,** Stäbchenbakterien. 35
Vegetationskörper zylindrisch, ellipsoidisch, eiförmig, gerade; bei den kurzen, fast kugeligen Formen wird die Trennung von Kokken schwer. Teilung immer senkrecht zur Längsachse; als Wuchsform nur unverzweigte Ketten.
1. Unterfamilie: Bacilleae.
Sporenbildende Stäbchen unverändert, zylindrisch. 40
7. Gattung: *Bacillus* (COHN). Unbeweglich.
8. Gattung: *Bacterium* A. FISCHER, beweglich, monotrich mit einer polaren Geißel.
9. Gattung: *Bactrillum* A. FISCHER, mit lophotrichen Geißeln.
10. Gattung: *Bactridium* A. FISCHER, beweglich, peritrich. 45
2. Unterfamilie: Clostridieae.
Sporenbildende Stäbchen spindelförmig.
11. Gattung: *Paracloster* A. FISCHER. Unbeweglich.
12. Gattung: *Clostridium* PRAŹMOWSKI, beweglich, peritrich.
3. Unterfamilie: Plectridieae. 50
13. Gattung: *Paraplectrum* A. FISCHER. Unbeweglich.
14. Gattung: *Plectridium* A. Fischer, beweglich, peritrich.
3. Familie: **Spirillaceae,** Schraubenbakterien.
Vegetationskörper zylindrisch, aber schraubig gekrümmt, Teilung immer senkrecht zur Längsachse. 55
15. Gattung: *Vibrio* (MÜLLER-LÖFFLER), schwach kommaförmig gekrümmt, beweglich, monotrich.
16. Gattung: *Spirillum* (EHRENB.), stärker schraubig in weiten Windungen gekrümmt, beweglich, lophotrich.
17. Gattung: *Spirochaete* (EHRENB.), sehr enge, zahlreiche Schraubenwindungen. Geißeln unbekannt, Zellwand vielleicht flexil.

2. Ordnung: **Trichobacterinae.**

Vegetationskörper ein unverzweigter oder verzweigter Zellfaden, dessen Glieder als Schwärmzellen (Gonidien) oder als Hormogonien sich ablösen.

1. Familie: **Trichobacteriaceae, Fadenbakterien.**

5 Charakter: der der Ordnung.

a) Fäden unbeweglich, starr, in eine Scheide eingeschlossen:

aa) Unverzweigt:

18. Gattung: *Chlamydothrix* MIGULA. Nicht festgewachsen, schwärmende
10 Zylindergonidien.

19. Gattung: *Thiothrix* WINOGRADSKY, wie vorige, aber mit Schwefel und festgewachsen.

20. Gattung: *Crenothrix* COHN. Festgewachsen, ohne Schwefel, mit Kugelgonidien, deren Bewegung noch nicht beobachtet.

15 bb) Gabelig pseudo-verzweigt:

21. Gattung: *Cladothrix* COHN (inkl. *Sphaerotilus*). Fäden verzweigt, pseudodichotom; lophotriche Zylindergonidien.

b) Fäden pendelnd und langsam kriechend beweglich, ohne Scheide:

20 22. Gattung: *Beggiatoa* TREVIS., mit Schwefel.

§ 37. Das System von W. Migula.

Mein kurz vor demjenigen FISCHER's erschienenes System (2) wurde von mir in ENGLER und PRANTL's „Natürlichen Pflanzenfamilien (3)“ und später (1) weiter ausgeführt und erhielt schließlich folgende Fassung:

25
Bacteria.

Phycochromfreie Spaltpflanzen mit Teilung nach 1, 2 oder 3 Richtungen des Raumes. Fortpflanzung durch vegetative Vermehrung. Bei vielen Arten Bildung von Ruhezuständen in Form von Endosporen. Beweglichkeit kommt bei einigen Gattungen vor und ist auf Geißeln 30 zurückzuführen. Bei *Beggiatoa* und *Spirochaete* sind die Bewegungsorgane unbekannt.

I. Ordnung: **Eubacteria.**

Zellen ohne Zentralkörper, Schwefel und Bacteriopurpurin, farblos oder schwach gefärbt, auch chlorophyllgrün.

35
1. Familie: **Coccaceae** (ZOPF) MIG.

Zellen in freiem Zustande vollkommen kugelrund, in Teilungsstadien oft etwas elliptisch erscheinend.

1. Gattung: *Streptococcus* BILLROTH. Zellen unbeweglich, rund, Teilung nur nach einer Richtung des Raumes, einzeln, paarweise oder zu perlschnurartigen Ketten ver-40 einigt.

2. Gattung: *Micrococcus* (HALL.) COHN. Die Zellen teilen sich nach 2 Richtungen des Raumes, wodurch sich beim Verbundenbleiben der Zellen nach der Teilung merismopediaartige Täfelchen bilden können. Bewegungsorgane fehlen.

3. Gattung: *Sarcina* GOODS. Die Zellen teilen sich nach 3 Richtungen des Raumes, 45 wodurch, wenn sie nach der Teilung verbunden bleiben, warenballenartig eingeschnürte Pakete entstehen können. Bewegungsorgane fehlen.

4. Gattung: *Planococcus* n. g. Die Zellen teilen sich nach 2 Richtungen des Raumes wie bei *Micrococcus*, besitzen aber geißelförmige Bewegungsorgane.

5. Gattung: *Planosarcina* n. g. Die Zellen teilen sich wie bei *Sarcina* nach 3 50 Richtungen des Raumes, besitzen aber geißelförmige Bewegungsorgane.

2. Familie: **Bacteriaceae.**

Zellen länger oder kürzer zylindrisch, gerade, niemals schraubig gekrümmt; Teilung nur nach einer Richtung des Raumes nach voraufgegangener Längsstreckung des Stäbchens.

1. Gattung: *Bacterium.* Zellen ohne Bewegungsorgane, oft mit Endosporenbildung. 5
2. Gattung: *Bacillus.* Zellen mit über den ganzen Körper angehefteten Bewegungsorganen, oft mit Endosporenbildung.
3. Gattung: *Pseudomonas.* Zellen mit polaren Bewegungsorganen, Endosporenbildung selten.

3. Familie: **Spirillaceae.** 10

Zellen schraubig gewunden oder Teile eines Schraubenumganges darstellend. Teilung nur nach einer Richtung des Raumes nach voraufgegangener Längsstreckung.

1. Gattung: *Spirosoma* n. g. Zellen ohne Bewegungsorgane, starr.
2. Gattung: *Microspira.* Zellen mit 1, seltener 2—3 polaren, wellig gebogenen 15 Geißeln, starr.
3. Gattung: *Spirillum.* Zellen starr, mit polaren Büscheln meist halbkreisförmig gebogener Bewegungsorgane.
4. Gattung: *Spirochaete.* Zellen schlangenartig biegsam, Bewegungsorgane unbekannt. 20

4. Familie: **Chlamydobacteriaceae.**

Zellen zylindrisch, zu Fäden angeordnet, die von einer Scheide umgeben sind. Vermehrung erfolgt durch bewegliche oder unbewegliche Gonidien, welche direkt aus den vegetativen Zellen hervorgehen und, ohne eine Ruheperiode 25 durchzumachen, zu neuen Fäden auswachsen.

1. Gattung: *Chlamydothrix* n. g. Zellen zylindrisch, unbeweglich, zu unverzweigten, von dicken oder dünnen Scheiden umschlossenen Fäden angeordnet, ohne Gegensatz von Basis und Spitze.
2. Gattung: *Crenothrix* Cohn. Fadenbildende Bakterien, ohne Verzweigung, mit 30 Gegensatz von Basis und Spitze, festsitzend. Scheiden dick, oft mit Eisenocker infiltriert. Zellen anfangs mit Teilung nach einer Richtung, später nach allen 3 Richtungen. Die Teilungsprodukte runden sich ab und werden zu Gonidien.
3. Gattung: *Phragmidiothrix* Engler. Zellen zu anfangs unverzweigten Fäden verbunden, sich nach 3 Richtungen des Raumes teilend und so einen Zellenstrang dar- 35 stellend. Später können einzelne Zellen durch die sehr feine und eng anliegende Scheide hindurchwachsen und zu Verzweigung Veranlassung geben.
4. Gattung: *Sphaerotilus* (inkl. *Cladothrix*). Zellen zylindrisch, in Scheiden eingeschlossen, dichotom verzweigte Fäden ohne Gegensatz von Basis und Spitze bildend. Vermehrung durch Gonidien, welche aus den Scheiden ausschwärmen, um sich an irgend- 40 einem Gegenstande festzusetzen und sofort zu neuen Fäden auszuwachsen. Gonidien mit einem subpolaren Geißelbüschel.

II. Ordnung: **Thiobacteria.**

Zellen ohne Zentralkörper, aber Schwefeleinschlüsse enthaltend, farblos oder durch Bacteriopurpurin rosa, rot oder violett, niemals grün 45 gefärbt.

1. Familie: **Beggiatoaceae.**

Fadenbildende Bakterien ohne Bacteriopurpurin.

1. Gattung: *Thiothrix* Winogradsky. Unverzweigte, in feine Scheiden eingeschlossene, unbewegliche, festgewachsene Fäden mit Teilung der Zellen nach einer 50 Richtung des Raumes. Am Ende der Fäden entstehen Stäbchengonidien mit kriechender Eigenbewegung.
2. Gattung: *Beggiatoa* Trevisan. Scheidenlose Fäden aus flachscheibenförmigen Zellen gebildet, nach Art der Oscillarien kriechend und um die Achse rotierend beweglich, frei. Gonidien nicht bekannt. 55

2. Familie: Rhodobacteriaceae.

Zellinhalt durch Bacteriopurpurin rosa, rot oder violett gefärbt, mit Schwefelkörnchen.

1. Unterfamilie: Thiocapsaceae.

Zellen zu Familien vereinigt, Teilung nach 3 Richtungen des Raumes.

1. Gattung: *Thiocystis* WINOGRADSKY. Familien klein, dicht, einzeln oder zu mehreren von einer Gallertcyste umgeben, schwärmfähig.

2. Gattung: *Thiocapsa* WINOGRADSKY. Familien auf dem Substrat flach ausgebreitet, aus kugeligen, in gemeinsamer Gallerte locker eingebetteten, nicht schwärmfähigen Zellen gebildet.

3. Gattung: *Thiosarcina* WINOGRADSKY. Familien paketförmig, nicht schwärmfähig, der Gattung *Sarcina* unter den Eubakterien entsprechend.

2. Unterfamilie: Lamprocystaceae.

Zellen zu Familien vereinigt. Teilung der Zellen zuerst nach 3, dann nach 2 Richtungen des Raumes.

1. Gattung: *Lamprocystis* SCHRÖTER. Familien anfangs solid, dann hohlkugelig, netzförmig durchbrochen, endlich in kleine, schwärmfähige Gruppen sich auflösend.

3. Unterfamilie: Thiopediaceae.

Zellen zu Familien vereinigt, Teilung nach 2 Richtungen des Raumes.

1. Gattung: *Thiopedia* WINOGRADSKY. Familien tafelförmig aus quaternär geordneten schwärmfähigen Zellen zusammengesetzt.

4. Unterfamilie: Amoebobacteraceae.

Zellen zu Familien vereinigt, Teilung nach einer Richtung des Raumes.

1. Gattung: *Amoebobacter* WINOGRADSKY. Zellen zu Familien vereinigt, nach einer Richtung des Raumes sich teilend. Familien amöboid beweglich, Zellen durch Plasmafäden verbunden.

2. Gattung: *Thiothece* WINOGRADSKY. Familien mit dicken Gallertcysten. Zellen in gemeinsamer Gallerte sehr locker eingelagert, schwärmfähig.

3. Gattung: *Thiodictyon* WINOGRADSKY. Familien aus stäbchenförmigen, mit ihren Enden zu einem Netz verbundenen Zellen bestehend.

4. Gattung: *Thiopolycoccus* WINOGRADSKY. Familien solid, unbeweglich, aus kleinen, dicht zusammengepreßten Zellen bestehend.

5. Unterfamilie: Chromatiaceae.

Zellen frei, zeitlebens schwärmfähig.

1. Gattung: *Chromatium* PERTY. Zellen zylindrisch-elliptisch oder elliptisch, verhältnismäßig dick.

2. Gattung: *Rhabdochromatium* WINOGRADSKY. Zellen frei, stab- und spindelförmig, zeitlebens schwärmfähig, mit Geißeln an den Polen.

3. Gattung: *Thiospirillum*. Zellen frei, zeitlebens schwärmfähig, spiralig gewunden.

§ 38. Die Systeme von Messea und von Lehmann und Neumann. Die Bedeutung der Gattungsbezeichnungen Bacillus und Bacterium bei den einzelnen Autoren.

Meinem Systeme und demjenigen FISCHER's gemeinsam ist, daß sie ein neues Prinzip, die Art der Begeißelung, zur Unterscheidung der Gattungen benutzen. Zwar hatte schon MESSEA (1) eine Teilung der Bakterien nach der Begeißelung versucht, aber weniger zu streng systematischen Zwecken, als mehr, um nur die Verschiedenartigkeit der Begeißelung für ganze Gruppen festzulegen. Er hatte die Bakterien folgendermaßen eingeteilt:

I. *Gymnobacteria*, ohne Geißeln.
II. *Trichobacteria*, mit Geißeln:
   1. *Monotricha*, mit einer Geißel an einem Pol.
   2. *Lophotricha*, mit Geißelbüschel an einem Pol.

3. *Amphitricha,* mit Geißeln an jedem Pol.
4. *Peritricha,* mit über den ganzen Körper zerstreuten Geißeln.

Die *Amphitricha* sind aber nichts weiter als polar begeißelte Arten, deren Zellen gerade vor der Teilung stehen und deshalb an beiden Polen Geißeln besitzen. Von FISCHER wurde außerdem auch noch die 5 Form der sporenbildenden Stäbchen in weitgehender Weise zur Begrenzung von Gattungen herangezogen, was von mir wegen der vielen die Grenzen verwischenden Zwischenformen unterlassen wurde. Auch die von FISCHER benutzte Einteilung in *Allococcaceae* und *Homococcaceae* konnte ich nicht aufnehmen, weil ich mich von dem tatsächlichen Vor- 10 handensein einer beliebig wechselnden Teilungsfolge in keinem einzigen Falle überzeugen konnte. Im Gegenteil zeigten alle *Micrococcus*-Arten, die ich darauf in der feuchten Kammer beobachtete, stets regelmäßig nur Teilung nach 2 Richtungen des Raumes. Die Diagnose für *Chlamydothrix* ist bei FISCHER insofern nicht ganz richtig, als die Gonidien un- 15 beweglich sind.

Von Botanikern sind diese Versuche einer Weiterbildung des natürlichen Systems fast allgemein angenommen worden. Die medizinische Richtung in der Bakteriologie schlägt aber ihre eigenen Wege ein, indem sie alle diese Versuche zu einer natürlichen Ausgestaltung des 20 Bakteriensystems als unnatürlich verwirft. So bringen LEHMANN und NEUMANN (1) folgendes System:

1. Familie: Coccaceae.
   1. Gattung: *Streptococcus.* Teilung (fast) nur nach einer Richtung des Raumes.
   2. Gattung: *Sarcina.* Teilung nach 3 Richtungen des Raumes. 25
   3. Gattung: *Micrococcus.* Teilung unregelmäßig nach verschiedenen Richtungen.
2. Familie: Bacteriaceae.
   1. Gattung: *Bacterium.* Ohne endogene Sporen.
   2. Gattung: *Bacillus.* Mit endogenen Sporen.
3. Familie: Spirillaceae. 30
   1. Gattung: *Vibrio.* Zellen kurz, schwach bogig gekrümmt, starr, mit einer polaren Geißel.
   2. Gattung: *Spirillum.* Zellen lang, spiralig gekrümmt, korkzieherartig, starr, mit einem meist polaren Geißelbüschel aus mehreren langen Haupt- und kurzen Nebengeißeln. 35
   3. Gattung: *Spirochaete.* Zellen biegsam, lang-spiralig gewundene Fäden darstellend. Geißeln unbekannt.

Für die Stäbchenbakterien wird also das Merkmal der Begeißelung verschmäht, für die Schraubenbakterien aber verwendet. Uebrigens lösten, wie hier zu bemerken ist, die Verfasser einige Arten aus der 40 Gruppe der Bakterien heraus und stellten sie wegen der bei ihnen vorkommenden Verzweigungen zu den Actinomyceten unter den Namen *Corynebacterium* und *Mycobacterium.*

KRUSE verzichtet in der Bearbeitung der III. Auflage von FLÜGGE's Mikroorganismen (1) ganz auf eine systematische Einteilung und bringt 45 die Beschreibung der Bakterien in lose aneinandergereihten, mit Nummern bezeichneten Gruppen.

Es ist also zurzeit eine Uebereinstimmung in den Anschauungen über die Einteilung der Bakterien noch durchaus nicht erzielt und die Meinungen über die Abgrenzung und den Charakter der Gattungen 50 gehen außerordentlich weit auseinander. Es ist aber die Kenntnis der verschiedenen Systeme zum Verständnis der Literatur zurzeit nicht ganz zu entbehren; denn je nachdem ein Autor sich an dieses oder jenes

System hält, haben seine Namen ganz verschiedene Bedeutung. Wie verschieden der Charakter der Gattungen gefaßt wird, mag an den beiden Gattungsnamen *Bacillus* und *Bacterium* erläutert werden.

	Bacillus	Bacterium
5	Nach COHN: Stäbchen zu Fäden auswachsend.	Stäbchen nicht zu Fäden auswachsend.
	„ ZOPF: Kokken- und Stäbchenformen in gewöhnlichen oder gewundenen Fäden mit Sporenbildung.	Kokken- und Stäbchenformen, die zu gewöhnlichen Fäden aneinandergereiht sind. Sporenbildung fehlend oder unbekannt.
10	„ WINTER: Zellen länger zylindrisch, zu Fäden verbunden.	Zellen kurz zylindrisch, einzeln oder zu zweien.
	„ SCHRÖTER: Zellen zylindrisch, mit Sporenbildung.	Zellen sehr klein, elliptisch, ohne Sporenbildung.
	„ HUEPPE: Stäbchen mit Endosporen.	Stäbchen mit Arthrosporen.
15	„ FISCHER: Unbeweglich, mit zylindrischen Sporenstäbchen.	Aufgelöst in zahlreiche Gattungen.
	„ MIGULA: Stäbchen, peritrich begeißelt.	Unbewegliche Stäbchen.
	„ LEHMANN & NEUMANN: Stäbchen mit endogenen Sporen.	Stäbchen ohne endogene Sporen.

20 Die ursprüngliche Bedeutung der Namen *Bacillus* und *Bacterium* hat also vielerlei Wandlung erfahren. —

Einige Bemerkungen zur Nomenklatur der Bakterien im allgemeinen sollen hier zum Schlusse noch angefügt werden. Die wissenschaftliche Benennung der Bakterien muß wie die aller übrigen Orga-
25 nismen nach dem Grundsatz der LINNÉ'schen binären Nomenklatur geordnet werden. Das war, solange die Systematik dieser Organismen in den Händen der Botaniker blieb, selbstverständlich. Sobald aber Forscher aus anderen Wissenschaften sich mit der Benennung neuer Arten zu beschäftigen anfingen, entstanden Namen, die durchaus nicht den Regeln
30 der Nomenklatur entsprachen, sondern oft viel mehr als zwei Namen umfaßten. Namentlich Mediziner haben in dieser Richtung viel gesündigt, indem sie, analog den in der Medizin gebräuchlichen Benennungen gewisser Krankheitsformen, die kurze Diagnose des betreffenden Bakteriums einfach ins Lateinische übersetzt als Artnamen verwendeten. So ent-
35 standen Namen wie *Bacillus fluorescens liquefaciens minutissimus* oder *Bacillus fluorescens putridus colloides*, Namen, die im Gebrauch höchst unbequem sind, wenn man auch ganz von ihrer Unwissenschaftlichkeit absehen will. Ich (3) habe deshalb schon 1895 den Versuch gemacht, dem Einreißen dieser unzulässigen Nomenklatur entgegenzutreten und
40 habe bei denjenigen Medizinern, die sich eingehender mit Systematik beschäftigen, wie LEHMANN und NEUMANN (1), damit Anklang gefunden. Leider sind aber nicht nur Mediziner sondern auch Chemiker und sogar vereinzelt Botaniker diesem Abusus gefolgt und folgen ihm z. T. noch, so daß die bakteriologische Nomenklatur zurzeit sehr im Argen liegt.
45 Ein fernerer, sehr häufiger Mißbrauch wird mit der Aufstellung biologischer Gattungen getrieben, die sich natürlich in keiner Weise vom wissenschaftlichen Standpunkt aus rechtfertigen lassen. So wurde z. B. auf das Vorkommen im Meerwasser die Gattung *Halibacterium* und

auf das Leuchtvermögen die Gattung *Photobacterium* gegründet. Gattungen dürfen aber nicht auf physiologischen Eigenschaften oder gar Standortseigentümlichkeiten sich aufbauen. Man kann den Namen Photobakterien u. dgl. eine gewisse Berechtigung zuerkennen, wenn sie nur eine Gruppe biologisch ausgezeichneter Arten und nur im biologischen Sinne be- 5 zeichnen sollen. Nur dürfen dann nicht Artnamen zu solchen Gruppennamen gesetzt werden, wie z. B. *Photobacterium delgadense* u. a.

Literatur

zum Kapitel Einteilung und Stellung der Bakterien im System.

***de Bary,** (1) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. Mycetozoen und Bakterien, 1884, und Vorlesungen über Bakterien, 1887, II. Aufl. ***Billroth,** (1) Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica, Berlin 1874. ***Cohn,** Ferd., (1) Nova Acta Acad. Caes. Leop. Carol. Nat. Cur. Vol. XXIV, P. I. — (2) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1872, Bd. I, H. 2. — (3) Ebenda. 1875, H. 3. — (4) Ebenda. 1876, Bd. II, H. 2. ***Dujardin,** F., (1) Histoire naturelle des Zoophytes, infusoires, comprenant la physiologie et la classification. Paris 1841. ***Ehrenberg,** (1) Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Leipzig 1838. ***Eisenberg,** (1) Bakteriologische Diagnostik, 1891, III. Aufl. ***Fischer,** Alfred, (1) Jahrb. wiss. Bot. 1895, Bd. XXVII, H. 1. — (2) Vorlesungen über Bakterien, Jena 1903, II. Aufl. ***Flügge,** (1) Mikroorganismen, 1896, II. Aufl. ***Hueppe,** F., (1) Formen der Bakterien, Wiesbaden 1886. — (2) Methoden der Bakterienforschung, Wiesbaden 1892, V. Aufl. — (3) Naturwissensch. Einführung in die Bakteriologie. Wiesbaden 1896. ***Lankester,** Ray, (1) Journal of microsc. science V, 1873, XIII. New Series. ***Lehmann** und **Neumann,** (1) Atlas und Grundriß der Bakteriologie, München 1899, II. Aufl. ***Lister,** (1) Nature, 1872, July 10 and 17. ***Matzuschita,** T., (1) Bakteriologische Diagnostik, Jena 1902. ***Messea,** (1) Rivista d'Igiene, 1890, I, Nr. 14. ***Meyer,** Arthur, (1) Flora, 1897, Bd. 84, H. 3. ***Migula,** (1) System der Bakterien, Jena 1897, Bd. I. — (2) Arb. a. d. bakt. Inst. d. techn. Hochsch. z. Karlsruhe, 1894, Bd. I, H. I. — (3) Engler u. Prantl's Pflanzenfamilien. Schizomycetes 1895. ***Miquel,** (1) Manuel pratique d'analyse bact. des eaux, Paris 1891. ***Müller,** O. F., (1) Animalcula infusoria, fluviatilia et terestria. Hanniae 1786. ***Nägeli,** (1) Ber. über die 33. Naturf.-Vers., Bonn 1857. ***Perty,** (1) Zur Kenntnis kleinster Lebensformen, 1852. ***Schröter,** (1) Pilze in Kryptogamen-Flora v. Schlesien, 1886. ***de Toni** und **Trevisan,** (1) Sylloge Schizomycetum, Padua 1889. ***van Tieghem,** (1) Traité de Botanique, 1883, I. Aufl. — (2) 1891, II. Aufl. ***Winter,** (1) Pilze in Rabenhorst's Kryptogamenflora, Lfg. 1. ***Zopf,** (1) Spaltpilze, 1884, I. Aufl. — (2) 1885, III. Aufl.

Zweiter Abschnitt.

Allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Eumyceten.

Von Prof. Dr. G. Lindau,
5 **Privatdozent an der Universität zu Berlin.**

(Manuskript-Einlauf: 21. März 1904.)

7. Kapitel.

Morphologie und Anatomie der Eumycetenzelle.

§ 39. Aeußere Gestalt.

Wie alle Pflanzen so bestehen auch die Fadenpilze *(Eumycetes)*
10 aus einer mehr oder weniger großen Anzahl von einzelnen Zellen, die dem physiologischen Zwecke des Gewebes entsprechend in ihrer Form und Größe einer weitgehenden Mannigfaltigkeit unterliegen. Ueber die Zusammensetzung zu Gewebsverbänden gibt das 8. Kapitel nähere Auskunft; hier soll uns nur die äußere Form beschäftigen.
15 Im Gegensatz zu den Schizomyceten (Spaltpilzen) unterscheidet man die Eumyceten oder Fadenpilze, die auch **Pilze** kurzweg heißen. Sie zeichnen sich vor jenen in erster Linie durch das Vorhandensein von Kernen aus, ferner durch die anders gestaltete Art ihrer Zellteilung, Verzweigung und Fortpflanzung. Es ist unnötig, hier ausführlich auf
20 diese Unterschiede nochmals einzugehen, da bereits bei den Schizomyceten (§ 15 u. 16) darauf hingewiesen worden ist und weitere Einzelheiten über die Eumyceten im 10. Kapitel sich finden werden.
Den einfachsten Bau zeigen die **einzelligen Fadenpilze.** Sie bestehen nur aus einer einzigen Zelle, die aber in höchst verschiedener
25 Weise ausgebildet sein kann. Den wahrscheinlichen Vorfahren am nächsten stehen Formen wie *Eomyces* und *Prototheca*, die sich in Baumflüssen finden. Sie unterscheiden sich von den *Pleurococcus*-Zellen nur durch das Fehlen des Chlorophylls. Wie diese stellen sie kugelige Zellen dar, die sich durch einfache Zweiteilung in 2, 4, 8 usw. Zellen zu teilen
30 vermögen. Wesentlich höhere Differenzierung zeigen bereits die unter dem Allgemeinbegriff „Hefen“ zusammengefaßten Formen. Die äußere

Gestalt der Zellen wechselt bei den einzelnen Arten von der Kugelform zum Ellipsoid und bis zu zylindrischen oder nadelförmigen Zellen. Auch die Chytridiaceen zeigen in ihren niedersten Formen einfache, mehr oder weniger kugelige Zellen.

Einen weiteren Schritt zur höheren Differenzierung stellen die 5 **schlauchförmigen Zellen** dar, die sich durch einfaches Spitzenwachstum verlängern und sich dabei mannigfach verzweigen können. Wir finden solche verzweigte, oft zu großer Ausdehnung auswachsende Zellen bei den Oomyceten, in Anlehnung an ihre Abstammung, die wahrscheinlich bei den Schlauchalgen (Siphoneen) zu suchen ist. So stellen die höher 10 ausgebildeten Gruppen der Chytridiaceen einfache ungekammerte Schlauchsysteme dar, ebenso die Saprolegniaceen und Peronosporaceen, bei denen dann allerdings bei der Fortpflanzung bestimmte Gliederungen des einfachen Schlauches auftreten. Auch die Zygomyceten besitzen in ihrer ursprünglichen Form nur einfache Schlauchmycelien, bei denen, wie wir 15 später sehen werden, Scheidewände unter bestimmten Bedingungen auftreten können.

Bei allen höheren Pilzen, den **Mycomyceten,** wird der *Thallus* (s. S. 166) aus einzelnen kleineren Zellen zusammengesetzt. Im allgemeinen herrscht in der äußeren Gestalt die zylindrische oder Schlauchform vor, 20 obgleich die Annäherung an die Kugelform durchaus nicht selten im Gewebeverbande ist. Aus überwiegend gleichartigen Zellen setzen sich die Schimmelpilze, die meist Konidienformen der Ascomyceten sind, zusammen; auch viele niedere Ascomyceten (wie *Hemiasci, Exoasci* usw.) und niedere Basidiomyceten (Exobasidiaceen, Hypochnaceen usw.) zeigen noch eine 25 mehr oder weniger große Gleichmäßigkeit in ihren Zellen. Das ändert sich aber mit dem Augenblick, in dem in Anpassung an die äußeren Verhältnisse eine höhere Ausbildung des vegetativen oder fruktifikativen Gewebes notwendig wird. Dann besitzen die epidermalen Elemente andere Formen als die mechanischen oder der Stoffleitung dienenden. 30 Wenn es auch nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse noch nicht möglich ist, die Gewebe der Pilze in jedem Falle nach ihrer physikalischen oder chemischen Leistung scharf zu sondern, so sind wir doch in einigen Fällen imstande, Form und Leistung der einzelnen Zellen miteinander in Einklang zu bringen. 35

Fast durchgängig herrschen bei den epidermalen Geweben, die auf Druck in Anspruch genommen werden, die kugeligen oder polyedrischen Formen der Zellen vor, während die zugfest gebauten Thallusspartien aus mehr länglichen Zellen gebildet werden. Die Oel- und Harzbehälter besitzen meist kugelige Form, die Milchsaftschläuche stellen dagegen 40 mehr oder weniger lange, einfache oder verzweigte Röhren dar. Im einzelnen auf diese Verhältnisse einzugehen, ist für die Zwecke dieses Handbuchs nicht notwendig, zumal weiter unten bei der Gewebebildung noch einzelne in Betracht kommende Beispiele angeführt werden sollen.

Bei den Fortpflanzungsorganen können die Formen der Zellen noch 45 mehr wechseln und denen des vegetativen Gewebes vollkommen unähnlich werden. Auch hierauf soll bei den verschiedenen Formen der Fortpflanzungsorgane im 9. Kapitel ausreichend eingegangen werden.

Wie bei jeder Pflanzenzelle, so unterscheiden wir auch bei der Zelle der Eumyceten die die äußere Form gewährleistende Membran, dann 50 das Plasma, seine Inhaltsstoffe und als besonderes Gebilde die Kerne. Auf diese einzelnen Bestandteile der Pilzzelle soll in den nächstfolgenden Paragraphen ausführlicher eingegangen werden.

§ 40. Die Membran.

Die Membran, welche die Pilzzelle umgibt, unterscheidet sich zwar äußerlich nicht von der der Zellen höherer Pflanzen, wohl aber in bezug auf ihre chemische Beschaffenheit (vgl. das 11. Kap.). Sie stellt in der 5 Jugend ein dünnes, farbloses Häutchen dar, das erst später durch Verdickungen und Farbstoffeinlagerungen sich weiter ausbildet.

Mit zunehmender Größe der Zelle wächst die Membran sowohl in die Länge wie in die Dicke. Bei einzelligen Sproßpilzen dürfte die **Längsstreckung** der Membran in ihrer ganzen Ausdehnung erfolgen, während 10 bei den Phycomyceten mit einzelligem Schlauchmycel die Streckung der Membran durch ausschließliches **Spitzenwachstum** erfolgt. Bei den durch Scheidewände gegliederten Mycelien der höheren Pilze wächst nur die **Scheitelzelle** (s. § 44) eines Fadens in die Länge und teilt sich dann nach erfolgter Maximalausdehnung in zwei Zellen, von denen die zurück- 15 liegende im großen und ganzen ihre Längsausdehnung abgeschlossen hat, während die vordere weiter als Scheitelzelle dient. Das Wachstum der Zelle findet nur an ihrem äußersten Ende statt; hier haben Plasma und Membran einen so innigen Zusammenhang, daß sich durch plasmolysierende Stoffe kein Abheben des Plasmaschlauches von der Membran erzielen 20 läßt. Gleich hinter der Spitze wird das Wachstum der Membran schwächer und erlischt dort bereits vollständig, wo eine vollkommene Plasmolyse erreichbar ist (Reinhardt [1 u. 2]). Weil der fortwachsende Scheitel äußerst empfindlich ist, so genügen schon schwache Lösungen, um ihn dauernd zu schädigen. Dagegen braucht dadurch die unterhalb 25 des Scheitels liegende, noch schwach wachstumsfähige Zone nicht gestört zu werden. Unter solchen Verhältnissen flacht sich der Scheitel nach Einstellung des Wachstums ab, die wachstumsfähige ringförmige Zone entwickelt sich allein weiter, wodurch zuerst eine kugelige Anschwellung des Endteils, endlich ein ringwallartiger Wulst um den flachen Scheitel 30 entsteht. Von diesem Wulst aus wachsen einzelne Stellen wieder zu Hyphen aus.

Wenn aber auch die Membran längst ihr Wachstum eingestellt hat und für nicht mehr fortbildungsfähig zu halten ist, so kann es doch in gewissen Fällen vorkommen, daß ein neuer Scheitel an irgend einer 35 Stelle einer Zelle entsteht. Wenn z. B. die Scheitelzellen zerstört werden, so entsteht an einer der älteren Zellen an beliebiger Stelle ein neuer Scheitel, der nun das weitere Wachstum besorgt. Man könnte versucht sein, ein derartiges Wiederaufleben älterer Membranteile mit den bei den höheren Pflanzen vorkommenden „schlafenden Knospen“ in Beziehung 40 zu setzen, wenn es überhaupt gestattet wäre, einfache Zellzüge mit kompliziert gebauten Geweben zu vergleichen. Auf einen anderen Fall der Wiederaufnahme des Spitzenwachstums, den sogenannten Durchwachsungen, soll im 8. Kapitel ausführlicher eingegangen werden.

Während das Längenwachstum der Membran wohl auf die Ein- 45 lagerung neuer Micelle zwischen die bereits vorhandenen zurückzuführen sein dürfte, findet bei den **Verdickungen der Membran** eine Auflagerung neuen Baustoffes statt. Die alte Streitfrage, ob eine neu aufgelagerte Lamelle wieder durch Einlagerung wächst, geht uns hier nicht an.

Besonders häufig sind **Auflagerungen**, die aus dem Plasma heraus 50 **auf die Innenflächen der Membranen** erfolgen; sie entstehen in zentripetaler Folge. Diese Auflagerungen können eine solche Mächtigkeit

erreichen, daß das Lumen der Zelle zum fast vollständigen Verschwinden gebracht wird. Eine derart ganz gleichmäßig die gesamte Membran überdeckende Auflagerung finden wir häufig bei den Hutgeweben von höheren Basidiomyceten, bei den Teleutosporenstielen der Uredinee *Phragmidium*, bei den Kapillitiumfasern von Bauchpilzen, seltener bisweilen auch bei Sporen usw. Gegenüber diesen besonders mächtig ausgebildeten Membranverdickungen finden sich mäßige sekundäre Auflagerungen bei fast allen Zellen in mehr oder minder deutlicher Weise vor. Meistens aber sind sie nicht vollständig gleichmäßig, sondern es bleiben scharf umschriebene Stellen unverdickt. Diese **Poren** oder **Tüpfel** haben verschiedene Zwecke zu erfüllen. Bei Fadenkomplexen finden sie sich auf den Querwänden, bei allseitig im Verbande stehenden Zellen (z. B. in Sklerotien) finden sie sich auf der ganzen Fläche der Membranen zerstreut. Wie bei den Phanerogamen so haben die Poren auch in diesen Fällen den Stoffaustausch zwischen den Zellen zu erleichtern. Daneben finden sich offene, äußerst feine **Kanäle**, welche den Uebertritt von Plasmasträngen aus einer Zelle zur anderen ermöglichen. Wenn auch solche **Plasmabrücken** nur erst in wenigen Fällen (A. Meyer [1]) nachgewiesen sind, so finden sie sich sicher im Pilzreich weit verbreitet vor. Eine etwas erweiterte Funktion besitzen die Poren, welche sich häufig bei Sporen mit dicken Membranen finden. Bekannte Beispiele dafür sind die Poren bei den Uredo- und Teleutosporen der Rostpilze, bei den dickwandigen Sporen einiger Flechten usw. Hier erleichtert natürlich die verdünnte Stelle in der Membran das Eindringen des für die Keimung der Spore so unerläßlichen Wassers; aber gleichzeitig bildet sie auch die Austrittsstelle des Keimschlauches. Bei den Oogonien der Saprolegniaceen finden sich ebenfalls verdünnte Membranstellen, die den Antheridien das Eindringen in das Oogon erleichtern sollen. Erwähnenswert sind endlich noch die Poren an dem Scheitel der Schläuche bei den Ascomyceten. Hier deuten sie die Stelle der geringsten Widerstandsfähigkeit der Membran an; wenn vor der Ejakulation der Sporen der Druck im Schlauche wächst, so findet am Scheitel das Aufreißen an der dünnen Membranstelle statt. Auf diese Einrichtungen zum Auswerfen der Schlauchsporen soll im 9. Kapitel bei der endogenen Sporenbildung noch eingegangen werden.

Verhältnismäßig selten bei den zentripetalen Verdickungen sind lokalisierte Auflagerungen, die meist als pathologische Produkte entstehen und hier nicht weiter berücksichtigt werden sollen.

Eine besondere Bedeutung im Pilzreich besitzen die der Membran von **außen aufgelagerten Verdickungen,** die in zentrifugaler Folge entstehen. Sie können natürlich nur bei Zellen erfolgen, die selbst im Plasma anderer Zellen eingebettet sind, wie es mit den endogen entstehenden Sporen in den Sporangien und Schläuchen der Fall ist. Diese ausschließlich lokalisiert auftretenden Verdickungen können in Form von Stacheln, fädigen Anhängen, Höckern, Wulsten, Platten, Waben, Bändern usw. sich vorfinden und zeigen, bei größter Konstanz bei den einzelnen Arten, die allergrößte Mannigfaltigkeit in den einzelnen größeren systematischen Einheiten.

Nicht selten findet sich bei älteren Membranen eine deutliche **Sonderung in einzelne Schichten.** In den meisten Fällen lassen sich eine Außen- und Innenschicht unterscheiden, die ihrerseits wieder in zwei oder mehrere Lagen differenziert sein können. Häufig läßt sich die Schichtung nicht unmittelbar wahrnehmen, sondern tritt erst bei An-

zweigen, an oder in Fruktifikationsorganen usw., anfangs in engster Verbindung mit der sich bildenden Membran, später getrennt davon. Das Cytoplasma sondert sich durch eine feine Hautschicht **(Primordialschlauch)** nach außen ab; durch Anwendung von wasserentziehenden Mitteln wird diese dadurch sichtbar, daß sie sich von der Wandung der Zelle abhebt. Während der Plasmakörper, solange er von einer Membran umgeben wird, keiner amöboiden Bewegung fähig ist, finden sich bei den Oomyceten einige Fälle, in denen eine Membran fehlt und das Plasma bis zu einem gewissen Grade beweglich wird, wenn sich auch die Art der Bewegung nicht mit derjenigen der Myxomycetenamöben vergleichen läßt. Wir treffen Beispiele in den Schwärmsporen (Zoosporen) der Chytridiaceen, Saprolegniaceen, Peronosporaceen usw. Meistens besitzen diese beweglichen Sporen ein oder mehrere Geißeln (Cilien), welche durch ihre Krümmungen und Schlängelungen die Bewegungen bewirken.

Innerhalb der Zellhaut findet im Plasma nur eine mehr oder weniger lebhafte Strömung statt. Diese Bewegungen sind besonders deutlich bei den Phycomyceten zu sehen, wenn das Plasma herangezogen wird, um beim Aufbau des Sporangiums tätig zu sein. Auch in Sporangien, z. B. bei *Saprolegnia*, zeigt sich die Bewegung, die rotierend ist, meist sehr deutlich. Viel weniger auffallend und daher wenig beachtet dürfte sie bei denjenigen Zellen sein, die bereits stärkere Zerklüftung des Plasmas durch Vakuolen zeigen. Wahrscheinlich aber würde sich auch in solchen Fällen eine Art Zirkulationsbewegung wie bei den höheren Pflanzen nachweisen lassen.

§ 42. Einschlüsse des Plasmas.

Während bei jungen Zellen das Plasma kontinuierlich das ganze Zellinnere ausfüllt, lockert sich mit zunehmendem Alter das Gefüge der ursprünglich homogenen Masse. Sie wird durch Vakuolen zerklüftet und scheidet allerlei Inhaltsstoffe aus.

Die **Vakuolen** können von ganz verschiedener Größe sein und sich in ganz verschiedener Anzahl in den einzelnen Zellen befinden. Bei den Saprolegniaceen enthalten die länglichen Zellen meist eine große zentrale Vakuole, so daß das Plasma zu einem die Innenseite der Membran bekleidenden Schlauch wird. Bei anderen Pilzgruppen kommen aber meistens mehrere Vakuolen in der Zelle vor. Die Hefenzellen besitzen außer einer oder zwei größeren Vakuolen meist noch eine Anzahl kleinerer. Bisweilen finden sich viele kleine Vakuolen im Plasma vor, so daß es schaumig erscheint. In den reifen Sporen fehlen Vakuolen meistens, während sie bei der Auskeimung der Sporen, wenn reichliche Wasseraufnahme eintritt, sofort zahlreich auftreten. Die Vakuolen sind mit Zellsaft erfüllt.

Von anorganischen Einschlüssen des Cytoplasmas sind bisher nur **Kristalle** und Kristalldrusen von oxalsaurem Kalk bekannt geworden. Im Gegensatz aber zu der Ein- oder Auflagerung an den Membranen kommen sie außerordentlich selten vor und können deshalb hier übergangen werden.

Weit häufiger sind Einschlüsse von organischen Stoffen. **Kristalloide** von eiweißartigen Körpern finden sich bei den Zygomyceten in Form von Octaedern oder triangulär abgestumpften Platten. Die erstere Form wird in den Fruchtträgern und in deren Nähe im Mycel von *Phycomyces*

nitens, *Sporodinia grandis*, *Rhizopus nigricans* u. a. angetroffen, die letztere bei der Gattung *Mucor*, *Thamnidium elegans* usw. Bei einigen wenigen Arten kommen beide Formen der Krystalloide vor.

VAN TIEGHEM (1), der diese Verhältnisse genauer studiert hat, bezeichnet die Eiweißsubstanz, aus denen die Kristalloide gebildet werden, als Mucorin. Während bei höheren Pflanzen die Kristalloide stets als Reservekörper dienen und im Bedarfsfalle aufgelöst werden, scheint das Mucorin ein Ausscheidungsprodukt zu sein. Das Vorkommen in der Nähe der Fruchtorgane scheint zwar die Meinung zu stützen, daß es sich dabei um Reservestoffe handle, aber bei der Bildung der Sporen bleiben die Kristalloide unverändert liegen und lösen sich nicht auf.

Aehnliche Kristalloide sind auch bei den Hefenzellen beobachtet worden, in denen sie unter bestimmten Kulturverhältnissen auftreten und sich sogar im Zellsaft der Vakuolen finden. Ob HIERONYMUS (1) recht hat, sie für Reservestoffe zu halten, mag dahingestellt bleiben (*Fig. 19*).

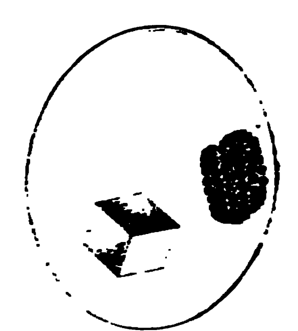


Fig. 19. Kristalloid in der Vakuole einer Preßhefenzelle. Daneben befindet sich ein dichter Knäuel von Granulis. — Vergr. 4400. Nach HIERONYMUS.

Bei den Saprolegniaceen, namentlich bei dem in Abwässern häufigen *Leptomitus* (siehe das 14 und 15. Kapitel des 3. Bandes), sind im Plasma die sogenannten **Cellulinkörner** vorhanden, die von sehr verschiedener Größe sein können. Es sind meist kugelige, farblose Gebilde, die mehr oder weniger deutlich konzentrische Schichtung zeigen. Der erste Untersucher, PRINGSHEIM (1), hielt sie für Reservestoffe; indessen haben wir es auch hier mit einem Ausscheidungsprodukt zu tun, das allerdings noch eine wichtige Nebenfunktion zu erfüllen hat. Die scheidewandlosen Hyphen von *Leptomitus* sind nämlich in bestimmten Abständen mit ringförmigen Einschnürungen versehen, wodurch der Faden in zellenartige, offen kommunizierende Abschnitte zerlegt wird. Wenn nun ein Faden verletzt wird, so treibt der Turgor das Plasma des Fadens nach der Oeffnung hin, schiebt aber gleichzeitig auch die in Ein- oder Mehrzahl in jedem Abschnitt liegenden Cellulinkörner vorwärts. Sobald ein solches Korn eine Einschnürungsstelle erreicht hat, wird ein hermetischer Verschluß erzielt und das Ausströmen des Plasmas hört auf. Das Korn verwächst fest mit der Membran und bildet so einen vollkommen sicheren Abschluß des beschädigten Fadens. Man kann also die Cellulinkörner als bewegliche Scheidewände bezeichnen. Sie bestehen aus einem der Pilzcellulose verwandten Kohlenhydrat, das sich in Schwefelsäure und Chlorzinkjodlösung leicht löst, hingegen in Kupferoxydammoniak, Alkalien, Salz- und Salpetersäure unlöslich ist.

Bei den Erysipheen finden sich in den Konidien die **Fibrosinkörner**, die aus kleinen, mannigfach geformten Körperchen bestehen. Daß man es bei ihnen mit Reservestoffen zu tun hat, geht daraus hervor, daß sie bei der Keimung der Konidien sich auflösen (ZOPF (1)).

Außerordentlich verbreitet als Inhaltsstoffe sind **Fette** und **fettes Oel**. Sie finden sich nicht bloß in den rein vegetativen Mycelzellen, sondern auch fast überall in den Sporen und in den mannigfaltigen Dauerzuständen des Mycels. Das Oel löst sich in Aether, Alkohol,

Chloroform, Chloralhydrat, Benzol, wird durch Alkanatinktur rot, durch einprozentige Ueberosmiumsäure braun gefärbt und zeigt die Akroleinreaktion. Es bildet entweder kleine, kugelige Tropfen oder große, oft formlose Massen, die durch Zusammenfließen einzelner Tropfen entstanden sind. Ganz bekannt ist sein Vorkommen bei den Gemmen von *Dematium*, 5 *Cladosporium*, *Fumago*, in den Zellen des Mutterkorns, in den vegetativen Zellen vieler Hutpilze, wo es häufig in bestimmten Zellen abgelagert ist, usw. Von besonderer Bedeutung ist das Vorkommen in den Sporen. Hier tritt die Ausbildung der Tropfen in der Größe und Zahl mit einer solchen Regelmäßigkeit auf, daß dies Merkmal in der systematischen 10 Mykologie eine hohe Bedeutung erlangt hat. Namentlich die Sporen der Ascomyceten zeigen die Tropfen in einer außerordentlich regelmäßigen Ausbildung und Verteilung. Obgleich in den meisten Fällen das Oel farblos ist, so besitzen doch ganze Gruppen von Pilzen eine charakteristische Färbung. Außerordentlich auffällig sind in dieser Beziehung 15 die goldgelb oder orangerot gefärbten Oeltropfen in den Sporen und Mycelien der Uredineen, in den Dauersporen einiger Chytridiaceen, bei den Apothecien von größeren Becherpilzen (Discomyceten) usw. Bei den Ascomyceten kommt häufig eine olivengrüne oder bräunliche Färbung des Oels vor. Ueber die chemische Beschaffenheit dieser und ähnlicher 20 Farbstoffe bringt das 12. Kapitel weitere Einzelheiten.

Eine weitere Gruppe von Inhaltsstoffen stellen die **Harze.** Sie kommen außerordentlich häufig in den Zellen der Hutpilze vor. namentlich in denen, welche allmählich holzig und hart werden. Hierzu gehören die verschiedenen Arten von baumbewohnenden *Polyporus*-Arten, 25 *Lenzites* und viele andere. Während bei diesen Pilzen sich das Harz in Form von mehr oder weniger großen amorphen braunen Klumpen in fast allen Zellen vorfindet, bleibt es bei anderen Pilzgruppen, wohin die niederen Basidiomyceten (Hypochnaceen, Thelephoraceen etc.) gehören, auf gewisse Zellen und Zellgruppen beschränkt. Weiteres über Harze 30 siehe im 12. Kapitel.

Außer diesen bisher genannten Stoffen sind aus dem Inhalt von Pilzzellen noch viele andere auf chemischem Wege isoliert worden, die aber für unsere Zwecke hier nicht in Betracht kommen, weil sie nicht an bestimmt geformte Massen gebunden sind, sondern sich im Plasma 35 oder Zellsaft gelöst vorfinden. Hierhin gehören z. B. Glycogen, Mannit, Farbstoffe und viele andere.

Stets fehlen den Pilzen die Chloroplasten und alle Produkte, die aus ihnen hervorgehen, so in erster Linie Leukoplasten und Stärkekörner. Das Fehlen des Chlorophyllfarbstoffes ist ein Hauptmerkmal 40 der Pilzzelle und bedingt ihre Eigentümlichkeiten in der Ernährung im Gegensatz zu den kohlensäureassimilierenden chlorophyllführenden Zellen.

§ 43. Kerne und Kernteilungen.

Bei der Unvollkommenheit der Tinktionsmethoden und der Präparation nahm man früher an, daß die pilzlichen Zellen überhaupt keine 45 Kerne enthielten. Was man in der systematischen Mykologie früher und auch heute noch als „nucleus“ bezeichnete, bezog sich nicht auf den Zellkern, sondern meist auf öl- oder harzartige Körper, die sich, wie wir oben bemerkt haben, in den Zellen und insbesondere in den Sporen recht häufig finden und beträchtliche Größe erreichen können. 50

Erst seitdem SCHMITZ (1) im Jahre 1879 und STRASBURGER (1) im Jahre 1884 mit Sicherheit durch Färbung bei mehreren Pilzen die Kerne nachgewiesen hatten, häuften sich die Beobachtungen. Heute haben wir die zuverlässige Erkenntnis gewonnen, daß jede lebensfähige 5 Eumycetenzelle einen oder mehrere Kerne besitzt. Allerdings sind die Kerne meist so winzig, daß in der Mehrzahl der Fälle nur die stärksten Vergrößerungen über deren Existenz und deren Bau Auskunft zu geben vermögen. Meistens beträgt die **Größe der Kerne** nur wenige Mikromillimeter. Bei manchen Pilzen geht sie aber noch tiefer hinab; 10 so besitzt z. B. der bekannte *Phycomyces nitens* Kerne von der Größe von 1,5—2 μ.

Im ruhenden Zustande stellt der Pilzkern ein mehr oder weniger kugeliges, mit Kernfärbungsmitteln stark tingierbares Gebilde dar, an dem sich nicht immer weitere Differenzierungen wahrnehmen 15 lassen. Meistens kann man den Nucleolus als noch stärker tingierbaren Punkt erkennen. Außerdem vermag man, wie sich namentlich bei der Teilung ergibt, das Linin als Grundsubstanz und die Chromosomen zu unterscheiden. DANGEARD (1) und H. WAGER (1) wollen auch Centrosomen bei mehreren Arten beobachtet haben; jedoch sind 20 diese Beobachtungen noch nicht genug sichergestellt, um hier weitere Beachtung finden zu können.

Damit also würde bewiesen sein, daß die Pilzkerne sich kaum in wesentlichen Punkten von den Kernen der höheren Pflanzen unterscheiden. Allerdings bieten die Kerne hinsichtlich ihrer Größe und der 25 Zahl der Chromosomen usw. wesentliche Verschiedenheiten dar, die sich aber nur auf die Quantität, nicht auf die Qualität, beziehen.

Die **Sichtbarmachung der Kerne** und ihrer Teilungsstadien erfolgt durch Anwendung von Härtungs- und Färbungsmethoden.

Zum **Härten** oder **Fixieren** wendet man verschiedene Flüssig- 30 keiten an, die aber nicht bei jedem Objekte gleich gute Resultate ergeben. Es ist deshalb notwendig, bei noch nicht untersuchten Objekten von mehreren Methoden die beste durch Versuche herauszufinden. Im allgemeinen hat sich die **Flemming**'sche **Lösung** bewährt, die darum auch die weiteste Anwendung findet. Sie besteht aus: 15 Vol. 1 proz. 35 Chromsäure, 1 Vol. Eisessig, 4 Vol. 4 proz. Osmiumsäure.

Daneben ist eine schwächere Lösung angegeben, die sich namentlich für Hutpilze gut bewährt hat; sie enthält: 0,25 Proz. Chromsäure, 0,1 Proz. Eisessig, 0,1 Proz. Osmiumsäure.

Eine etwas andere Zusammensetzung hat STEVENS empfohlen, mit 40 deren Verwendung RUHLAND (1) gute Resultate erzielt hat. Angeführt seien noch folgende Lösungen, die ebenfalls in neuerer Zeit mit Erfolg Anwendung fanden: Chromameisensäure nach RABL (200 g $^1/_2$ proz. Chromsäure und 4—5 Tropfen konz. Ameisensäure), Chromsäure-Platinchlorid nach MERKEL (1 Vol. 1 proz. Chromsäure, 1 Vol. 1 proz. Platin- 45 chlorid, 6 Vol. Wasser), Essigosmiumpikrinsäure nach VOM RATH (4 ccm Eisessig, 1 g Osmiumsäure, 1000 ccm konz. wässerige Pikrinsäurelösung), Essigosmiumpikrinsäure-Platinchlorid nach VOM RATH (500 ccm konz. wässerige Pikrinsäurelösung, 3 ccm Eisessig, 5 g Platinchlorid in 5 ccm Wasser gelöst, 2 g Osmiumsäure), Pikrinessigsäure nach BOVERI (100 Vol. 50 konz. wässerige Pikrinsäurelösung, 200 Vol. Wasser, 3 Vol. Eisessig), Sublimateisessig nach KEISER (3 g Eisessig [2,9 ccm], 10 g Sublimat, 300 g Wasser) usw.

Die weitere Behandlung hängt von der Natur des zu untersuchenden

Objektes ab und richtet sich danach, ob das Mikrotom zur Anwendung kommen muß oder nicht. Es kann hier nicht der Ort sein, ausführliche Vorschriften über die Weiterbehandlung der fixierten Objekte bis zur Färbung und zur Anfertigung der Präparate zu geben. Man ziehe dazu besser die Handbücher von STRASBURGER (1), ZIMMERMANN (1) u. a. sowie 5 die spezielle Literatur zu Rate. Namentlich die letztere wird am ehesten zum Ziele führen, da, wie schon erwähnt, die Methoden bei den verschiedenen Pilzgruppen ganz verschiedenartige sind.

Mit wenigen Worten sei hier noch einiger **Kernfärbungsmittel** gedacht, die gute Resultate ergeben haben; ihre nähere Anwendungsweise 10 kann hier nicht besprochen werden. Besonders günstig erweist sich das **Flemming**'sche Gemisch von Gentianaviolett, Orange und Safranin, das in den allermeisten Fällen gute Erfolge gibt. Für gewisse Objekte (z. B. Hefen) wird das Eisenhämatoxylin nach **Heidenhain** empfohlen, außerdem kommen auch Jodgrün und Fuchsin zur Verwendung. 15

Erst die richtige Anwendung dieser neueren Präparationsmethoden hat das Studium der Pilzkerne ermöglicht und in den letzten Jahren eine solche Fülle von eigenartigen Resultaten gebracht, daß es schwer ist, eine einheitliche zusammenfassende Darstellung zu geben. Dies kann hier auch um so weniger beabsichtigt sein, als von technisch 20 wichtigen Pilzen bisher nur eine geringe Zahl untersucht worden ist.

Wie gesagt, ist das **Vorkommen der Kerne** in den Pilzzellen überall festgestellt worden, wo mit entsprechender Methodik gearbeitet wurde. In den vegetativen Zellen finden sich meistens ein oder mehrere Kerne vor; so besitzen die Mycelzellen von *Penicillium glaucum* 1—2 Kerne, 25 die Zellen des reifen Mutterkornes (*Claviceps purpurea*) ebenso viele. Dagegen hat *Aspergillus glaucus* in jeder Mycelzelle 3—30 Kerne, in den jungen Konidienträgern aber mehrere Hunderte, von denen je einer durch das Sterigma in eine Konidie übertritt. Die Zweizahl der Kerne in den vegetativen Zellen scheint bei den Ascomyceten sehr häufig zu 30 sein; auch bei den meisten anderen Pilzgruppen findet sich die gleiche Verteilung. Daneben allerdings existieren Arten, die konstant nur einen Kern oder mehr als zwei besitzen. Bei den Hutpilzen finden sich meistens zwei, aber auch bis 4 Kerne. Die Uredineen (Rostpilze) besitzen in ihren Zellen, bis zu den Sporen, je 2 Kerne (konjugierte Kerne). Bei 35 den Ustilagineen (Brandpilze) ist das einzellige Mycel zunächst vielkernig, bei der Zerteilung in Sporen bekommt jede Spore einen Kern mit. Bei den Phycomyceten (*Mucor*, *Leptomitus* etc.) finden sich im Mycelschlauch stets zahlreiche Kerne vor, die unter Umständen von winziger Kleinheit sein können. Endlich sei noch der echten Saccharo- 40 myceten Erwähnung getan, welche stets in jeder Zelle nur einen Kern besitzen.

Die **Teilung der Kerne** kann bekanntlich auf zweierlei Art erfolgen. Im ersten Falle (amitotische Teilung, Fragmentation) schnürt sich der Kern in der Mitte ein und zerfällt in zwei Teile. Diese 45 bei höheren Pflanzen nicht gerade häufige Teilungsart scheint bei Pilzen häufiger zu sein, wobei allerdings in Betracht gezogen werden muß, daß bei der Kleinheit der Kerne die Vorgänge bei der Teilung nicht immer mit wünschenswerter Deutlichkeit gesehen werden können. Die normale und weitaus häufigere Teilungsart ist die mitotische Teilung oder 50 Segmentation der Kerne. Die Vorgänge, welche sich dabei abspielen, unterscheiden sich nicht von denen bei der Kernmitose der höheren Pflanzen, nur sind alle Teile an Größe und Zahl reduziert. Die Chromo-

somen werden in viel geringerer Zahl ausgebildet, die Spindelfäden treten ebenfalls nur zu wenigen auf. Die Längsspaltung der Chromosomen wurde wegen ihrer Kleinheit bisher noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen, Centrosomen konnten auch noch nicht sicher erkannt werden. 5 Auf den normalen Teilungsprozeß braucht hier nicht weiter eingegangen zu werden, da er mit ganz geringen Modifikationen dem der höheren Pflanzen gleich ist. Außerdem bringen die noch anzuführenden Beispiele einige Einzelheiten bei.

Neben den Teilungen kommen **Vereinigungen von Kernen** als nor- 10 male Vorgänge in Pilzzellen sehr häufig vor. So ist es feststehende Regel, daß vor jeder Sporenbildung eine Kernvereinigung in einer bestimmten Zelle stattfindet.

Es kann nun hier nicht die Aufgabe sein, alle einzelnen über Pilzkerne ermittelten Tatsachen aufzuführen, das würde den Rahmen der Dar- 15 stellung weit überschreiten und für die technische Mykologie wenig Wert besitzen. Außerdem stellt sich einer solchen Darstellung die große Schwierigkeit in den Weg, daß sich die einzelnen Beobachtungen noch nicht unter bestimmte Gesichtspunkte bringen lassen. Um aber wenigstens die wichtigsten Tatsachen vorzuführen, sollen aus den größeren 20 Abteilungen der Pilze einzelne bekanntere Vertreter herausgegriffen und das Verhalten der Kerne bei ihnen genauer geschildert werden. Allerdings muß dabei der Fortpflanzung und der Ausbildung der Sporen eine ganz besondere Beachtung geschenkt werden, denn gerade bei der Fruktifikation bieten die Kerne die merkwürdigsten Erscheinungen dar, 25 die bisher für die Systematik nur wenig Verwertung gefunden haben.

Ich beginne mit der Darstellung der Kernvorgänge in der Familie der Saccharomyceten und verweise in bezug auf alle näheren historischen Einzelheiten über den merkwürdigen Wandel unserer Anschauungen über die Hefenkerne auf das 2. Kapitel des 4. Bandes. Die 30 gewöhnliche Hefe (z. B. Bierhefe) besitzt einen Kern, der sich durch geeignete Kernfärbungsmittel (vgl. Hoffmeister [1], Guilliermond [1]) sichtbar machen läßt. Die Teilung des kleinen Kernes erfolgt auf einfachste Art durch eine Karyokinese, die kaum diesen Namen verdient. Die Tochterkerne bleiben noch eine Zeitlang durch einen Faden verbun- 35 den (*Fig. 20, 1—2*). Bei der Sprossung geht ein Tochterkern in die neu entstehende Tochterzelle. Handelt es sich dagegen um Sporenbildung, so findet eine mehrmalige Teilung des Kernes statt, bis soviel Kerne vorhanden sind, als Sporen ausgebildet werden sollen. Bei den *Saccharomyces* nächst verwandten Gattungen *Schizosaccharomyces* und *Zygosaccharo-* 40 *myces* verlaufen nun die Kernvorgänge deshalb nicht so einfach, weil hier vor der Sporenbildung eine Kopulation zweier Zellen stattfindet. Diese merkwürdige, für die erstere Gattung durch Schiönning (1), für die letztere durch Barker (1) nachgewiesene Kopulation verläuft in großen Zügen folgendermaßen, wobei ich mich auf *Zygosaccharomyces* beschränke 45 (*Fig. 20*). Wenn sich zwei Zellen zur Sporenbildung anschicken, so treiben beide einen kurzen, wie eine beginnende Aussprossung aussehenden Schlauch gegeneinander (*Fig. 20, 9—13*). Nach Berührung der Schläuche verschmelzen sie an der Spitze, so daß ein hantelförmiges Gebilde entsteht. Dann wandert der Kern der einen Zelle in die andere 50 hinüber und vereinigt sich mit dem dort befindlichen Kern (*Fig. 20, 14*). Dabei tritt eine Teilung des Kopulationskernes ein, und der eine Kern begibt sich wieder in die kernlose Zelle zurück (*Fig. 20, 15*). Dann teilen sich die Kerne in der gewöhnlichen Weise, bis in jeder Zelle zwei

Sporen vorhanden sind (*Fig. 20, 16—17*). Von besonderem Interesse ist hierbei das Zurückwandern des einen Kernes; ein Vorgang, der bisher ganz einzig dasteht.

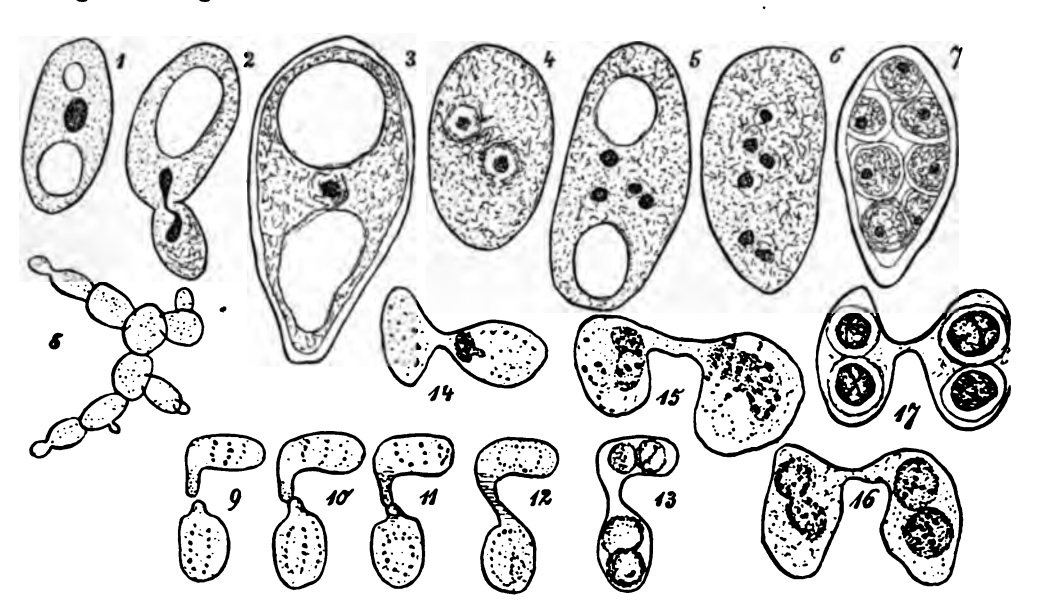


Fig. 20. Kernteilungen bei *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* und *Zygosaccharomyces*. *1* u. *2* *Saccharomyces ellipsoideus* nach HOFFMEISTER; *1* mit ruhendem, *2* mit sich teilendem Kern. — *3–7* *Schizosaccharomyces octosporus* nach HOFFMEISTER; verschiedene Stadien der Kernteilung bis zur Sporenbildung. — *8–17* *Zygosaccharomyces Barkeri* nach BARKER. *8* Sproßkolonie, *9–13* Stadien der Kopulation bis zur Andeutung der Sporen. *14* Kopulationsstadium mit vereinigten Kernen, *15* erfolgte Auswanderung des Tochterkerns, *16* Teilung der Tochterkerne, *17* Sporenbildung mit den Kernen.

Für die Ascomyceten hat DANGEARD (1) ganz allgemein angegeben, daß in der Anlage des Ascus stets zwei Kerne vorhanden sind, durch deren **Kopulation** dann der eigentliche Ascuskern entsteht, welcher durch mehrfache Teilungen die Kerne für die Sporen liefert. Einen solchen **Verschmelzungsvorgang** der beiden Kerne zu einem großen Ascuskern zeigt *Fig. 21* für *Exoascus deformans*, dem Pilz, der die bekannten Hexenbesen bei den Kirschen erzeugt. Bei den meisten anderen bisher untersuchten Ascomyceten findet immer erst eine Vereinigung der beiden ursprünglich in der Askenmutterzelle(Ascogon) vorhandenen Kerne statt, ehe dann durch weitere Teilungen des Kopulationskernes die Sporenbildung eingeleitet wird. Ein Uebertritt des Kernes aus einer anderen Zelle (Antheridium, Pollinodium) in das Ascogon wurde zwar oft behauptet, so namentlich von HARPER (1, 2), läßt sich aber mit Sicherheit als Täuschung nachweisen (DANGEARD). Näheres darüber am

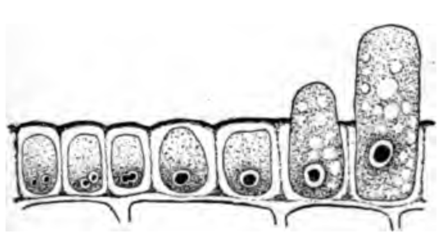


Fig. 21. *Exoascus deformans.* Kernverschmelzung bei der Bildung der Schläuche. — Nach DANGEARD.

Schlusse des 10. Kapitels. In wenigen Fällen kommt auch eine **Vielzahl** von Kernen im Ascogon vor. So besitzt *Pyronema*, das ebenfalls **ein** viel umstrittenes Objekt für die **Sexualität** bei den Ascomyceten **ist,** 5 etwa 200 Kerne im Ascogon, die paarweise kopulieren. Näher kann **hier** auf die vielfach sehr verwickelten Verhältnisse und auch auf die **zur** Sporenbildung führenden Teilungen im Ascus nicht eingegangen werden; es sei in dieser Beziehung namentlich auf die grundlegenden Arbeiten von DANGEARD, HARPER, GJURAŠIN (1) u. a. verwiesen.

10 Außerordentlich einfache Verhältnisse zeigen die Brandpilze aus der Gattung *Ustilago*. Das Mycel dieser in höheren Pflanzen parasitierenden Formen ist vielkernig und zerfällt in viele Teilstücke, deren jedes einen Kern erhält und zur Chlamydospore wird. Dagegen sollen nach DANGEARD bei einer anderen Brandpilzgattung, *Entyloma*, zuerst 15 zwei Kerne in den Sporen vorhanden sein, die dann kopulieren. Bei den Hefenkonidien der Brandpilze hat MÖLLER nur einen Kern in jeder Zelle gefunden. ISTVÁNFFI dagegen gibt an, daß bei lebhafter Sprossung meist zwei Kerne vorhanden sind, von denen der eine zentral, der andere polar liegt; der polare Kern teilt sich bei der Sprossung und entsendet 20 einen Tochterkern in die neue Sproßzelle. Man hätte durch diese Kernverhältnisse vielleicht ein Mittel an der Hand, um die echten Hefen (*Saccharomyces*) von den Hefenkonidien, die als Nebenfruchtformen auftreten, unterscheiden zu können.

Die Rostpilze weichen von diesem Typus weit ab. Die Mutter-25 zelle einer Teleutospore (z. B. von *Puccinia*) enthält zuerst zwei Kerne (*Fig. 22, A*), die sich simultan teilen. Es findet dann die Abtrennung einer Stielzelle mit zweien dieser Kerne statt (DANGEARD und SAPPIN-TROUFFY). Die beiden Kerne in der Sporenmutterzelle teilen sich aber-

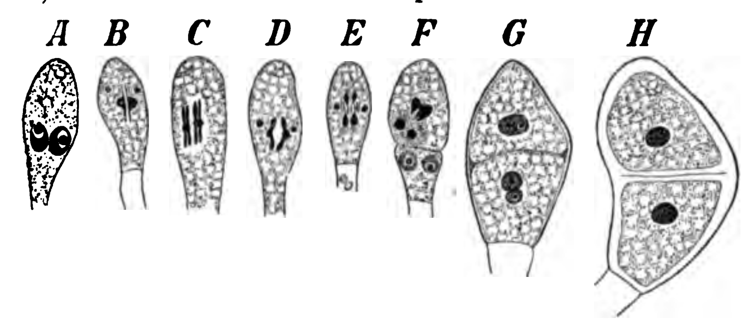


Fig. 22. Puccinia liliacearum.
A Ende einer sporogenen Hyphe. *B—E* Kernteilungsstadien darin. *F, G* junge Teleutosporen mit Vereinigungsstadien der Kerne. *H* reife Teleutospore. — Nach POIRAULT und RACIBORSKI.

mals (*Fig. 22, B—E*), und jede Zelle der neugebildeten Teleutospore 30 erhält zwei Kerne, die nach kurzer Zeit verschmelzen (*Fig. 22, F—H*). POIRAULT und RACIBORSKI (1) haben diese Kernpaare konjugierte Kerne genannt. Aehnliche Teilungsvorgänge finden auch bei den Aecidiensporenketten statt, indem hier immer die beiden oberen Kerne der Sporenmutterzelle in die Aecidiensporen zu liegen kommen. Sie teilen sich nochmals, 35 und ein Paar bleibt in der Aecidienspore erhalten, während das andere Paar in die sogenannte Zwischenzelle übergeht. Bei der Karyokinese der Aecidienkerne sollen nach POIRAULT und RACIBORSKI die Nucleolen ins Cytoplasma treten.

Bei den höheren Basidiomyceten scheint es allgemeine Regel zu sein, wie DANGEARD angibt, daß zuerst in der jungen Basidie zwei Kerne sich vorfinden. Sie verschmelzen zu einem Kern, der sich fortdauernd vergrößert und dann abermals Teilungen eingeht. Bei den geteilten Basidien erfolgen soviel Teilungen, daß jede Teilzelle der Basidie einen Kern be- 5

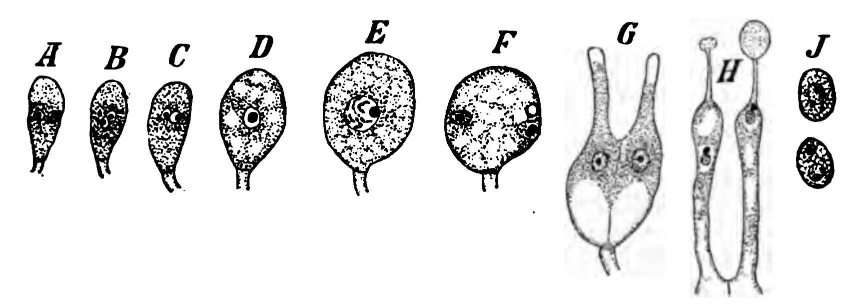


Fig. 23. Tremella mesenterica.
A—F Entwicklung der Basidie. *A—C* Vereinigung der beiden Kerne. *D* Verschmolzener Kern. *E*, *F* Teilung des Kerns. *G* fertige Basidie. *H* Einwanderung der Kerne in die Sterigmen und Sporen. *J* reife Sporen. — Vergr. 900. Nach DANGEARD.

kommt, welcher dann später in die Spore einwandert (*Fig. 23*). Bei den ungeteilten Basidien, wie sie allgemein bei den Hutpilzen vorkommen, teilt sich der Basidienkern, der aus der Kopulation der zwei ursprünglich vorhandenen hervorgegangen ist, zuerst in zwei Kerne, die

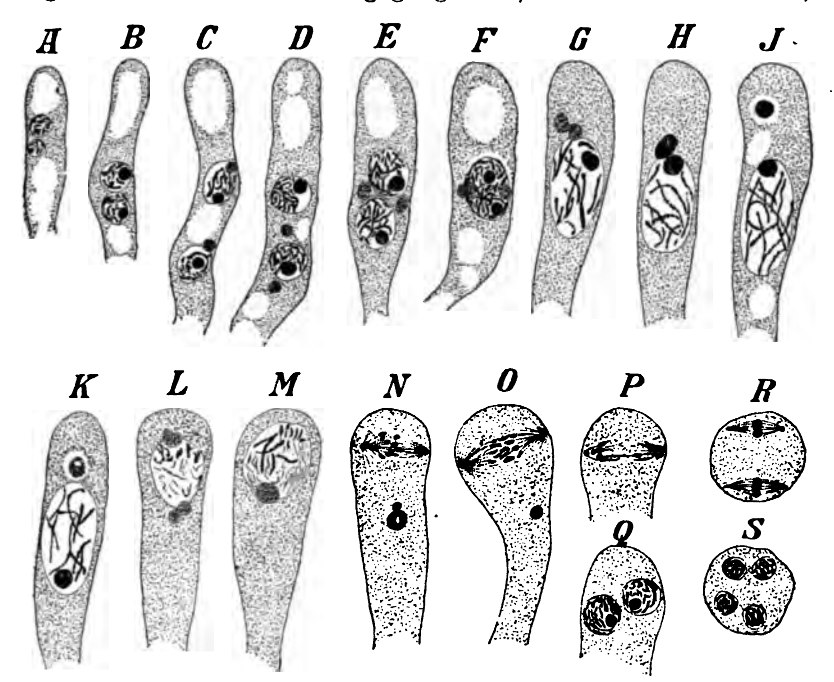


Fig. 24. Mycena galericulata. Basidienentwicklung und Kernvorgänge nach WAGER. *A—E* wachsende Kerne in der jungen Basidie. *F* Verschmelzung der Zellkerne. *G—M* der Kern schickt sich zur Teilung an. *N—P* Kernteilungsfiguren. *Q* Vollendete Tochterkerne. *R* Abermalige Teilung. *S* die 4 Kerne der reifen Basidie.

sich dann nochmals teilen (*Fig. 24*). Diese vier Kerne liegen anfangs am Grunde der Basidie dicht aneinander geschmiegt, so daß sie fast den Eindruck eines einzigen Kernes machen; dann aber steigen sie mit der Ausbildung der Sterigmen in die Höhe und wandern durch sie in die sich bildenden Sporen ein. Auf diese Weise erhält jede der vier Basidiensporen je einen Kern. Diese im allgemeinen zutreffende Darstellung scheint aber im einzelnen doch mannigfache Abänderungen zu erfahren. Wir besitzen aber noch zu geringe Kenntnis, als daß der Versuch aussichtsvoll erscheinen könnte, gewisse Widersprüche in den Angaben der Autoren zu lösen.

Während die größeren Gruppen der höheren Pilze, nämlich der Mycomyceten, wenigstens einigermaßen einen gleichartigen Typus in den Kernvorgängen erkennen ließen, ändern sich die Verhältnisse bei den Phycomyceten vollständig, da mit der größeren Mannigfaltigkeit der Befruchtungs- und Fortpflanzungseinrichtungen auch die Kompliziertheit in den Kernvorgängen zunimmt. Auch hier sind unsere Kenntnisse noch sehr lückenhaft und lassen noch keine erschöpfende Darstellung zu.

Die Chytridiaceen enthalten meist, soweit bisher Vertreter der einzelnen Gruppen untersucht sind, in den vegetativen Zellen zahlreiche Kerne, die Schwärmer (Zoosporen) dagegen stets nur einen einzigen. Auch die vegetativen Hyphen der Saprolegniaceen enthalten zahlreiche Kerne, die bei substanzarmen Fäden z. B. bei *Leptomitus* sogar im Leben gesehen werden können (HARTOG [1]). In die Sporangien sollen soviel Kerne übertreten, als Zoosporen gebildet werden. Ueber die Kernvorgänge in den geschlechtlichen Fortpflanzungsorganen gehen die Beobachtungen der Autoren noch weit auseinander.

Besser bekannt sind wir mit der Familie der Peronosporaceen, die in den letzten Jahren von mehreren Forschern untersucht wurde. Da aber in der Gruppe technisch wichtige Pilze sich nicht finden, so soll hier nicht näher darauf eingegangen werden. Einzelheiten darüber enthält die Arbeit von RUHLAND (2), in der auch die vorhergehende Literatur ausführlich berücksichtigt worden ist.

Bei den Zygomyceten wurden in den Schlauchmycelien zahlreiche kleine Kerne beobachtet, auch in den Gemmen und Sproßkonidien wurde mehr als ein Kern beobachtet. Diese Kerne besitzen einen großen Nucleolus, eine deutliche Kernmembran, aber wenig Chromatin. Bei der Bildung der Sporangien wandern zahlreiche Kerne in die jungen Anlagen ein und verteilen sich auf die Sporen, so daß jede von ihnen einen erhält. Unmittelbar nach Austreiben des Keimschlauches aus den Sporen finden schnell aufeinanderfolgende Teilungen dieses Kernes statt, so daß selbst kleine Keimfäden schon 8—10 Kerne enthalten. Die jungen Zygoten besitzen zuerst zahlreiche kleine Kerne, die bis nach der Verschmelzung und der Ausbildung der jungen Zygospore erhalten bleiben. Dann scheint es, als ob bei zunehmender Reife der Zygosporen ein Teil der Kerne aufgelöst würde, denn in späteren Stadien finden sich nur 1—2 tinktionsfähige Kugeln vor (*Fig. 25*). Diese werden von LÉGER Embryokugeln genannt (DANGEARD und LÉGER) und sollen nach ihm aus der Verschmelzung der früheren Kerne entstehen. Zuletzt befinden sich in jeder Zygospore zwei Embryokugeln, die homogen aussehen und zuerst einfach dann doppelt umwandet sind. Bei der Keimung wird diese Membran aufgelöst, die Embryokugeln selbst dehnen sich aus und verschmelzen miteinander. Sogleich treten in der früher homogenen Masse die kleinen Kerne wieder auf. Bei den Azygosporen soll nur eine

Embryokugel vorhanden sein. Ganz sicher gestellt sind die soeben skizzierten Resultate nicht; denn die dicke und dunkel gefärbte Membran der Zygosporen erschwert den Einblick in diese verwickelten Verhältnisse ungemein. In den Konidien von *Chaetocladium Jonesii* wurden von SCHMITZ (1) stets 4—7 Kerne beobachtet.

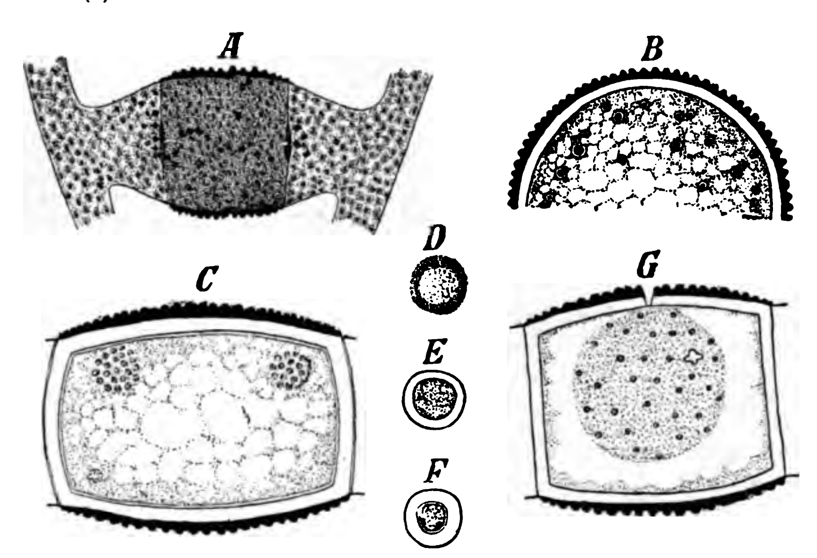


Fig. 25. Sporodinia grandis.
A Längsschnitt durch eine junge Zygospore, mit zahlreichen Kernen und Kristalloiden. *B* Querschnitt durch eine ältere Zygospore mit zahlreichen Kernen. *C* Längsschnitt durch eine Zygospore zur Zeit der Bildung der Embryokugeln. *D—F* spätere Entwicklungsstadien der Embryokugel. *G* Zygospore nach Verschmelzung der Embryokugeln kurz vor der Keimung. — Vergr.: *A*, *D—G* 850 mal, *B* 1000 mal, *C* 700 mal. Nach LÉGER.

Schließlich sei noch der Entomophthoraceen gedacht, welche durchgängig mehrere Kerne zeigen. Die bisher in diese Gruppe eingereihte Gattung *Basidiobolus* verhält sich etwas anders, indem jede Zelle nur einen großen Kern besitzt.

Literatur

zum Kapitel Morphologie und Anatomie der Eumycetenzelle.

***de Bary,** A., (1) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze etc. Leipzig 1884. ***Barker,** (1) Trans. Roy. Soc. London 1901. ***Buscalioni,** (1) Malpighia, 1896, Bd. 10, S. 281. ***Dangeard,** (1) Le Botaniste, 1889—90. ***Dangeard** et **Léger,** Le Botaniste, 1896. ***Dangeard** et **Sappin-Trouffy,** (1) Compt. rend. de l'Ac., 1893, CXVI, S. 211, 267. ***Gjurašin,** (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1893, Bd. 11, S. 113. ***Guilliermond,** (1) Recherches cytol. sur les levures, Paris 1902. ***Harper,** (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1895, Bd. 13, S. (67) u. 475. — (2) Ann. of Bot., 1899, Bd. 13, S. 467, 1900, Bd. 14, S. 321. ***Hartog,** (1) Ann. of Bot., 1896, Bd. 10, S. 98. ***Hieronymus,** (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1893, Bd. 11, S. 176. ***Hoffmeister,** C., (1) Lotos, 1900. ***Istvánffi,** (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1895, Bd. 13, S. 452. ***Meyer,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1896, Bd. 14, S. 280. ***Nowakowski,** (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1876, Bd. 2, S. 73. ***Poirault** et **Raciborski,** (1) Journ. de Botan., 1895. ***Pringsheim,** N., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1883, Bd. 1, S. 288. ***Reinhardt,** O., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1892, Bd. 23, S. 479. — (2) Festschr. f. Schwendener, 1899. ***Rosen,** (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1892, Bd. 5 u. 6. ***Rosenvinge,** (1) Ann. sc. nat., 1886, 7. sér., Bd. III, S. 75. ***Ruhland,** (1) Bot. Ztg., 1901,

Bd. 59, S. 187. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1903, Bd. 39, S. 135 (hier die neueste Literatur). ***Schiönning,** (1) Comptes rendus de Carlsberg. 1895, Bd. 4, S. 30. ***Schmitz,** (1) Verhandl. Naturh. Ver. d. preuß. Rheinl. u. Westf., 1879, Bd. 36, S. 345, 1880, Bd. 37, S. 159. ***Strasburger,** (1) Das botan. Praktikum, Jena 1884. ***van Tieghem,** (1) Ann. sc. nat., 1875, 6 sér., Bd. I, S. 5. ***Wager,** (1) Ann. of Bot., 1892, Bd. 6, S. 146; 1893, Bd. 7, S. 489; 1894, Bd. 8, S. 321. ***Zimmermann,** Die Morphologie und Physiologie des pflanzl. Zellkerns. Jena 1896 (hier die ältere Literatur). ***Zopf, W.,** (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1887, Bd. 5, S. 275. — (2) Die Pilze, Breslau 1890.

8. Kapitel.

Morphologie der Zellverbände.

§ 44. Das typische Mycel.

Wenn man von wenigen Gruppen der Eumyceten (Saccharomyceten, Torula etc.) absieht, so kann als wichtigster und am meisten in die Augen fallender Unterschied (s. S. 26) zwischen Schizomyceten und Eumyceten hingestellt werden, daß die ersteren keine echten Verzweigungen besitzen, die letzteren aber auf die mannigfachste Art verzweigt und verästelt sein können. Unter **echten Verzweigungen** versteht man solche, welche durch Dichotomie des Scheitels einer **Hyphe** (siehe weiter unten) oder durch Austreiben eines Seitenastes unterhalb des Scheitels so zustande kommen, daß der kontinuierliche Zusammenhang des Plasmas zwischen Stamm- und Seitenfaden gewahrt bleibt. Die Mannigfaltigkeit der Gestaltung und die Ueppigkeit der Ausbildung der Verzweigungen sind bei den verschiedenen Ordnungen der Eumyceten verschieden und nehmen im allgemeinen zu, je höher man im System aufsteigt. Die niedriger stehenden Gruppen besitzen entsprechend einfachere Verzweigungen und nähern sich damit den Schizomyceten und ihren Urahnen, den Chlorophyceen, aus denen sie wohl (s. § 32) hervorgegangen sind.

Schon mit unbewaffnetem Auge läßt sich bei einigermaßen genauer Betrachtung des Thallus der höher entwickelten Eumyceten mehr erkennen als das Bestehen eines mehr oder minder reich verzweigten Hyphensystems. Gar bald wird man den ganzen **Thallus** (s. S. 26) in zwei Teile zerlegen können, die zwar innig miteinander zusammenhängen, jedoch ganz verschiedenen Zwecken dienen. Der eine besorgt die Ernährung und Erhaltung des Einzelwesens und wird als **Mycelium** oder kurzweg **Mycel** bezeichnet, der andere hingegen sorgt für die Fortpflanzung und somit für die Erhaltung der Art und stellt als den fruktifikativen Teil [illegible] das einzelne **fruktifikative Organ** dar. Dieses bringt besondere Fortpflanzungszellen hervor, die ganz allgemein **Sporen** genannt werden und aus sich ein neues Individuum gleicher Art hervorgehen lassen.

Das Mycel [illegible] Nährboden verbreitet [illegible] Thallus bezeichnet werden. [illegible] Spore. [illegible] Nährboden [illegible] stark an [illegible]

man **Keimschläuche** nennt (*Fig. 26*). Sie verlängern sich und bringen Seitenäste hervor, die ihrerseits sich wieder auf gleiche Weise betätigen. Ganz allgemein nennt man einen solchen Faden oder einen solchen Ast **Hyphe** oder **Pilzfaden.** Die Gesamtheit aller Hyphen, die aus einer Spore hervorgegangen sind, bildet also das Mycel eines Pilzindividuums. In manchen Fällen keimen die Sporen nicht mit typischen Fäden aus, sondern bringen Sproßkonidien hervor; nähere Einzelheiten darüber sind im folgenden § 45 zu finden.

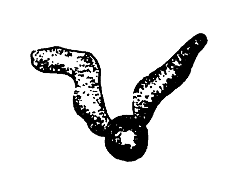


Fig. 26. Mucor mucedo. Keimende Spore, welche bereits zwei Keimschläuche hervorgetrieben hat. — Vergr. 300. Nach Brefeld.

Entsprechend der Funktion des Mycels als nahrungsaufnehmenden Teiles des Thallus müssen seine Hyphen sich immer weiter verlängern und immer reicher verästeln, um neue Teile des Nährbodens aufzuschließen. Dieses **Längenwachstum der Hyphen** geht nur an ihrem **Scheitel** (oder Spitze), also dem vom Zentrum, das von der gekeimten Spore dargestellt wird, am weitesten entfernten Punkte vor sich. Die dem Zentrum näher liegenden Teile der Hyphen stellen ihre Streckung und Verlängerung ein. Wir haben also bei den Eumyceten ein reines **Scheitel-** oder **Spitzenwachstum** (vgl. darüber auch die Auseinandersetzung im § 40). In diesem Verhalten kann ein weiteres Unterscheidungsmerkmal zwischen Eumyceten und Schizomyceten erblickt werden, da bei diesen letzteren der gesamte Zellkörper in seiner Membran streckungsfähig ist.

Betrachtet man Mycelien von Pilzen aus verschiedenen Ordnungen, so fällt bei schwacher Vergrößerung sofort auf, daß die einen querwandlos (unseptiert) sind, während die anderen deutliche Querwände **(Septa)** besitzen, also septiert sind. Durch diese Querwände werden die Hyphen in mehr oder weniger lange Abteilungen (Zellen) zerlegt. Man unterscheidet nach diesem Verhalten des Mycels die beiden wichtigsten Hauptgruppen der gesamten Eumyceten, die querwandlosen **Algenpilze oder Phycomyceten** und die septierten **echten Fadenpilze oder Mycomyceten.** Die weiteren Unterschiede dieser beiden Hauptabteilungen werden im 10. Kapitel noch weitere Besprechung finden.

Zunächst wollen wir jetzt die **Entwicklung des Mycels eines Mycomyceten** aus der Spore verfolgen. Wir wählen dazu an der Hand von *Fig. 27* die Entwicklung des häufigsten aller Schimmelpilze, des gemeinen Pinselschimmels (*Penicillium glaucum*). Bald nachdem die Keimschläuche aus der Spore hervorgetrieben worden sind, grenzt sich jeder von ihnen gegen diese durch eine Querwand (Septum) ab. Dann verlängert er sich und fügt in seinem Innern eine Querwand ein, durch welche er in zwei Zellen gegliedert wird. Von diesen beiden Zellen wird die der Spore (also dem Wachstumsmittelpunkte) zugewendete als **Binnenzelle,** die der Peripherie zustrebende als **Scheitelzelle** oder Endzelle bezeichnet; die erstere stellt ihr Längenwachstum ein. Die Scheitelzelle hingegen streckt sich, verlängert sich und bildet abermals eine Querwand, wodurch wieder eine Binnenzelle (zweiter Ordnung) abgegrenzt wird. Dies wiederholt sich dann verschieden oft. Unterdessen bleiben die Binnenzellen nicht untätig. Sie verlängern sich zwar nicht mehr, treiben aber dafür seitlich Ausstülpungen hervor, welche zu Seitenzweigen heranwachsen, die sich gegen die Binnenzelle durch eine Querwand absetzen, sich hierauf verlängern, durch ein zweites Septum

in eine Binnenzelle (zweiter Ordnung) und eine Scheitelzelle sich gliedern, die dann diesen Vorgang so oft wiederholt, als die äußeren Umstände es zulassen. Doch nicht nur die Binnenzellen erster Ordnung sondern auch alle später entstehenden treiben solche Seitenzweige dritter bis

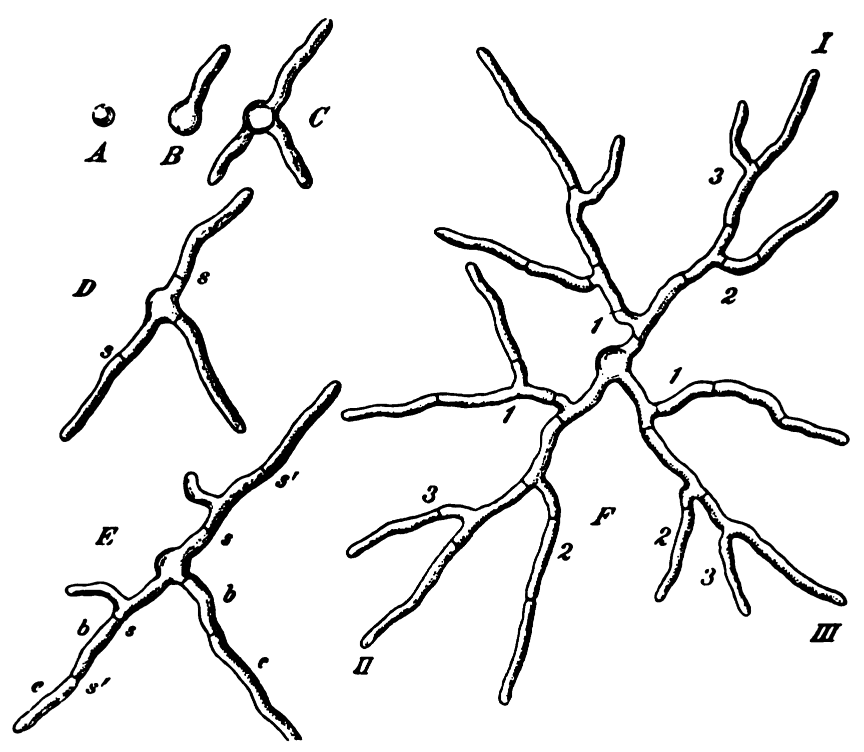


Fig. 27. Entwicklung des Mycels von *Penicillium glaucum*.
A reife Spore. *B* und *C* Spore mit einem und drei Keimschläuchen. *D* Abtrennung der Keimschläuche von der Spore durch je eine Querwand (*s*). *E* Zerlegung der Keimschläuche durch Einschiebung einer zweiten Querwand (*s'*) in eine Endzelle (*e*) und eine Binnenzelle (*b*). Anlegung von Verästelungen an zwei Stellen. *F* Entwicklung der Keimschläuche zu einem Hauptast (*I*, *II*, *III*), welcher Seitenzweige 1.—3. Ordnung (*1*, *2*, *3*) hervorgebracht hat. — Vergr. 400. Nach Zopf.

5 n-ter Ordnung. Die Gesamtheit aller dieser Fäden stellt dann das **Mycel** (Mycelsystem) dar. Die Reihenfolge, in welcher an den einzelnen Binnenzellen nach und nach Seitenzweige hervorgetrieben werden, entspricht in der Regel dem Alter der ersteren: die älteste beginnt. Es schreitet also diese Entwicklung zeitlich von der Spore (als Basis) gegen 10 die Peripherie (dem Scheitel der Hyphen) zu vor. Man bezeichnet demgemäß eine derartig sich entwickelnde Zweigbildung als b a s i f u g a l e oder a c r o p e t a l e. Auch die seitliche Stellung der Aeste ist in der Regel eine sehr regelmäßige; die Seitenzweige, welche von den Binnenzellen ungerader Ordnung entspringen, gehen alle von der gleichen 15 (z. B. linken) Seite, hingegen die von gerader Ordnung alle von der anderen (also rechten) Seite der betreffenden Binnenzellen ab. Solche Art der Verzweigung, bei der eine bestimmte Zelle nur e i n e n Seitenzweig („Fuß“) hervortreibt, bezeichnet man als m o n o p o d i a l. Haupt-

zweig und Seitenzweig zusammen heißen Monopodium. Das Wesen dieser Verzweigungsart liegt in erster Linie darin, daß der Hauptast (Stammhyphe) in seiner Fortentwicklung nicht gehemmt wird gegenüber dem Wachstum des Seitenastes. Tritt dagegen ein Aufhören des Fortwachsens bei der Haupthyphe ein, während der Seitenast sich allein weiter entwickelt, wobei sich beim Seitenast in den höheren Ordnungen genau dasselbe Spiel wiederholt, so bekommen wir die sympodiale Verzweigung oder das Sympodium. Solche Verzweigungen sind beim Mycel selten oder nie ganz rein anzutreffen, während sie bei Konidienträgern häufiger auftreten.

Der Verlauf der **Entwicklung des Mycels eines Phycomyceten** unterscheidet sich von dem soeben geschilderten Verlauf selbstredend insofern, als die Scheidewandbildung unter normalen Verhältnissen unterbleibt. Die Gliederung der Hyphen in Binnenzelle und Scheitelzelle tritt also nicht ein. Das dergestalt heranwachsende Mycel erweist sich also, wie schon gesagt, als eine einzige, reich verzweigte, unseptierte Zelle (oder Mycelschlauch). Davon gibt die *Fig. 28* ein gutes Bild. Zur Vervollständigung der Kenntnis des Baues eines Phycomycetenmycels muß aber hier gleich eingeschaltet werden, daß Scheidewandbildung nicht so selten vorkommt, nur hat sie hier andere Gründe und dient anderen Zwecken. Im allgemeinen erschließt die fortwachsende Spitze neue Teile des Nährbodens, der Hauptteil der Nahrungsaufnahme liegt also hier. In dem Maße, wie der Schlauch sich verlängert, strömt auch das Cytoplasma mit den Kernen dem Scheitel zu. An geeigneten Punkten nun wird dieses Plasma gegen den hinteren, der Spore näher liegenden Teil des Mycelschlauches durch eine Wand abgegrenzt und damit der plasmareiche, vordere Teil von dem inhaltsarmen, jedenfalls der Ernährung nicht mehr dienenden Teil abgetrennt. Man bezeichnet deshalb zweckmäßig solche Wände als **Kammerungswände.** Das einzellige Mycel der Phycomyceten erweist sich damit vortrefflich dem Nährboden angepaßt, indem es gleichsam immer nach dem nährstoffreicheren Teil des Substrates vorwärts kriecht und die auf dem aus-

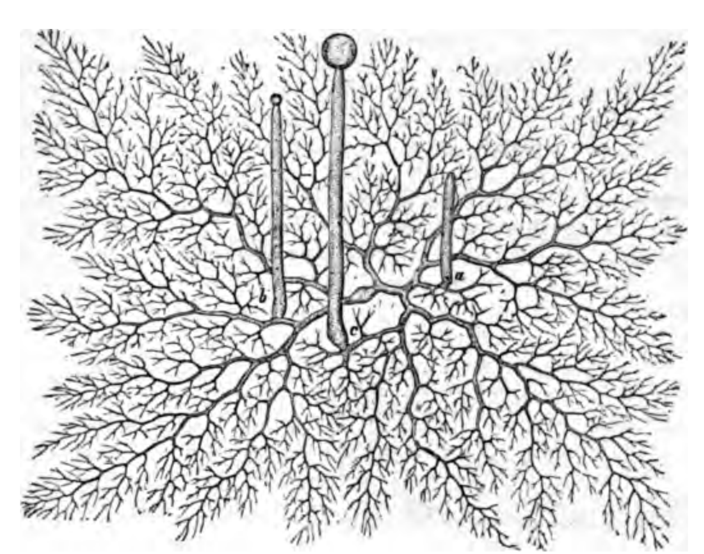


Fig. 28. Thallus von ***Mucor mucedo.***
Zeigt das aus der Spore hervorgegangene einzellige Mycel, von welchem drei in verschiedenen Entwicklungsstufen stehende Sporangienträger *a*, *b*, *c* sich erheben. Ungefähr zehnfach vergrößert. Nach Kny.

gesogenen Teil des Substrates befindlichen Partien über Bord wirft. Dieselbe Erscheinung tritt auch ein, wenn ein Phycomycet (z. B. *Mucor*) sich zur Sporangienbildung anschickt. Dann wird das Plasma in dem aufwärts wachsenden Stiel des Sporangiums konzentriert und, sobald 5 eine genügende Masse sich angesammelt hat, von dem vegetativen Teil durch eine Kammerungswand abgetrennt. Auch bei Verletzungen des Mycelschlauches würde das Plasma durch den im Innern herrschenden Turgor nutzlos herausgespritzt werden, wenn nicht sofort in der Nähe der Verletzungsstelle durch Bildung einer Wand für die Rettung des 10 gefährdeten Inhaltes gesorgt würde.

Die oben gemachte Angabe, daß die Binnenzellen an dem Wachstum des Mycels der Mycomyceten insofern keinen weiteren Anteil nehmen, als sie weder sich strecken noch Querwände bilden, kann als Regel gelten. Es gibt aber auch hier Ausnahmefälle. Bei abnormaler Er-15 nährung, Verletzungen etc. stellt sich manchmal auch innerhalb einer Binnenzelle Querwandbildung (Septierung) ein, verbunden mit einer Streckung der Zelle. Man bezeichnet diese Erscheinung, im Gegensatz zum Scheitelwachstum, als **interkalares Wachstum** und **interkalare Septenbildung.**

20 An ein besonders auffälliges Beispiel des interkalaren Wachstums soll im Anschluß hieran erinnert werden, weil im § 49 darauf Bezug genommen wird, nämlich an die sogenannten **Durchwachsungserscheinungen.** Man trifft oft bei dickhyphigen Pilzen auf Stellen, an denen

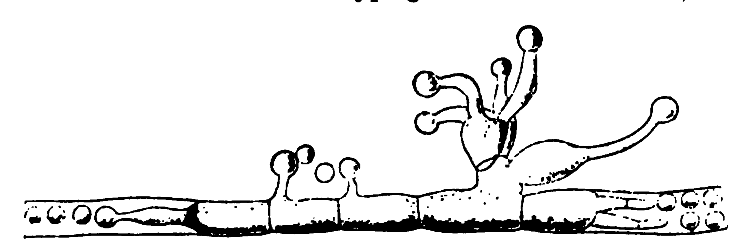


Fig. 29. Botrytis cinerea.
Durchwachsungserscheinungen. Jede der beiden an den verletzten Zellen des abgebildeten Mycelstückes liegenden Zellen hat ihre Nachbarin durchwachsen und innerhalb dieser dann kugelige Konidien abgegliedert. Die mittlere Zelle des Mycelfadens hat abnorm ausgebildete Fruchtträger hervorgetrieben. — Nach P. LINDNER.

zwei Pilzfäden ineinander zu stecken scheinen. Forscht man dieser 25 eigentümlichen Erscheinung entwicklungsgeschichtlich nach, so ergibt sich folgendes. Wenn im Verlaufe eines Fadens ein oder mehrere Zellen durch irgend einen äußeren Umstand zerstört worden sind, so kann es vorkommen, daß die gesunden Zellen, welche an den toten Mycelteil angrenzen, an ihren Querwänden fädig austreiben. Der Faden 30 wächst in die tote Mycelpartie hinein, und es entsteht so das Bild von zwei ineinander steckenden Pilzfäden. Häufig geht das Auswachsen nicht in so weitgehendem Maße vor sich, sondern die Querwände stülpen sich bloß columellaartig (*Fig. 29*) vor und vermögen sogar dann Konidien zu bilden (vgl. § 49 im 9. Kapitel).

35 Wenn das Wachstum des Mycels, bei Mangel äußerer Hindernisse, nach allen Richtungen hin gleich gut erfolgen kann, so entsteht ein sternförmiges System strahlig verlaufender, verzweigter Fäden, dessen Mittelpunkt die gekeimte Spore bildet. Man spricht in diesem Falle,

einen von Zopf gegebenen Namen gebrauchend, von einem **typischen Mycel.** Dem Praktikanten eines mykologischen Laboratoriums bieten sich solche typische Mycele häufig von selbst dar, wenn er die Plattenkulturen, die für eine mykologische Analyse von Milch, Bier etc. angelegt und studiert waren, noch ein paar Tage stehen läßt und sie dann nochmals untersucht. Es sind bei dem ersten Studium aus der Luft Sporen von Schimmelpilzen auf die Platte gefallen und haben sich hierauf zu solchen Mycelien entwickelt.

Es ist vielleicht nicht überflüssig, noch eine Bemerkung über den Ausdruck **„Fadenpilze“** zu machen. Von den meisten Autoren wird er als gleichbedeutend mit Eumyceten gebraucht, d. h. er bezeichnet, im Gegensatze zu den Spaltpilzen (Schizomyceten) und Schleimpilzen (Myxomyceten), diejenigen chlorophyllosen Thallophyten, deren Thallus aus Fäden zusammengesetzt ist. Außerdem wird aber der Ausdruck Fadenpilze oder **Hyphomyceten** („Mucedinées“ der französischen Autoren) noch in einem engeren Sinne gebraucht, indem er diejenigen Pilze bezeichnet, welche als vegetatives Organ ein Mycel besitzen, wie es im vorstehenden geschildert wurde (von den Fruktifikationsorganen ganz abgesehen). Wir sehen also, daß der Ausdruck Fadenpilze durchaus zweideutig ist und daß er besser in der allgemeinsten Bedeutung, also identisch mit Eumyceten, gebraucht werden sollte. Im zweiten, engeren Sinne erscheint aber nicht bloß der Name Fadenpilze, sondern auch Hyphomyceten oder Mucedineen als unstatthaft. Mit den letzteren beiden Ausdrücken werden nämlich in der systematischen Mykologie Gruppen von *Fungi imperfecti* scharf und eindeutig bezeichnet, und zwar Mucedineen als eine Untergruppe der Hyphomyceten. Es würde also auch der Gebrauch dieser Bezeichnungen zu Verwechslungen und Unklarheiten Anlaß geben, die im Interesse einer scharfen und bezeichnenden Nomenklatur lieber vermieden werden sollten. Wenn überhaupt eine Notwendigkeit vorliegt, die Pilze mit typischem Mycel als Ganzes zu benennen, so genügt der gute alte Name „Schimmelpilze“ vollständig.

§ 45. Das Sproßmycel.

Die Bezeichnung typisch, die wir einem Mycel zuerkennen, wenn es in der im vorhergehenden Paragraphen näher bezeichneten Weise wächst, läßt bereits erkennen, daß es neben dieser einen Art von Entwicklung noch andere Möglichkeiten gibt, die sich teils als Veränderungen, teils als Vereinfachungen jenes Verlaufes erweisen. Die wichtigste dieser Abänderungen vom Typus ist das **Sproßmycel**, dessen genaueres Studium einen sehr wichtigen Gegenstand der technischen Mykologie bildet.

Das Sproßmycel unterscheidet sich vom Fadenmycel äußerlich schon dadurch, daß die einzelnen Zellen nicht nebeneinander in einer Linie sich entwickeln, sondern daß sie sich zu mehr oder weniger großen, baumartigen Kolonien anordnen. Der Grund für dieses eigentümliche Verhalten liegt in der Art, auf welche die Tochterzelle aus der Mutterzelle entsteht, nämlich durch **Sprossung.** Der Vorgang dabei ist folgender (*Fig. 30*). Die Keimzelle oder **Mutterzelle** treibt eine Ausstülpung hervor, die sich aber nicht zu einer schlauchartigen Zelle sondern zu einem Gebilde entwickelt, das in seiner Gestalt der Mutter-

zelle ähnlich ist und als **Sproß**, auch **Sproßkonidie** oder **Hefenkonidie**, bezeichnet wird. Die Tochterzelle grenzt sich dann gegen die Mutterzelle durch eine Querwand ab, die sich später in zwei parallele Schichten spaltet und so die Trennung der beiden Zellen möglich macht. In vielen Fällen treibt die Mutterzelle nur einen einzigen Sproß hervor, in anderen hingegen zwei oder mehr. Sobald die Tochterzelle zur Größe der Mutterzelle herangewachsen ist, kann sie selbst fortsprossen und einen Sproß (zweiter Ordnung) bilden, aus der dann wieder ein Sproß (dritter Ordnung) hervorgeht und so fort.

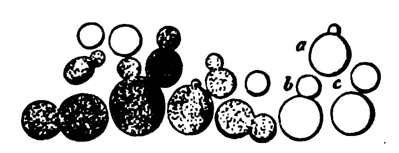


Fig. 30. Sprossung einer *Torula* in Bierwürze.
In *a* hat die Zelle eben einen winzigen Sproß hervorgetrieben. $1^1/_2$ Stunden darauf (*b*) ist er beträchtlich größer, nach weiteren 2 Stunden (*c*) ist er zur halben Größe der Mutterzelle herangewachsen und hat sich schon von ihr getrennt. — Vergr. ca. 1000. Nach HANSEN.

Der morphologische Ort, wo die Sprossung an der Mutterzelle stattfindet, ist nicht fest bestimmt, doch gilt im allgemeinen als Regel, daß bei nicht kugeligen Zellen der Scheitel der Mutterzelle nicht aussproßt. Die Sprosse entstehen daher meist etwas unterhalb des Scheitels.

Wenn die Mutterzelle, wie z. B. bei den meisten Hefenarten, kugelig oder eiförmig oder zitronenförmig ist, so hat im allgemeinen auch die Tochterzelle diese Gestalt und wird als **Kurzsproß** bezeichnet. Kurzsprosse von kugeliger Gestalt wurden früher wohl auch als **Kugelhefe** bezeichnet, ein Name, der auch heute noch für die Sproßkonidien einiger *Mucor*-Arten Geltung besitzt. Ist die Mutterzelle dagegen länglich, so wird die von ihr hervorgebrachte Tochterzelle schon von Anbeginn an sich vornehmlich nach der Längsrichtung entwickeln und also ein **Langsproß** sein. Beispiele dafür sind manche *Mycoderma*-Arten. In gewisser Hinsicht könnte man derartige langsprossige Formen als Uebergangsglieder zum typischen Mycele betrachten.

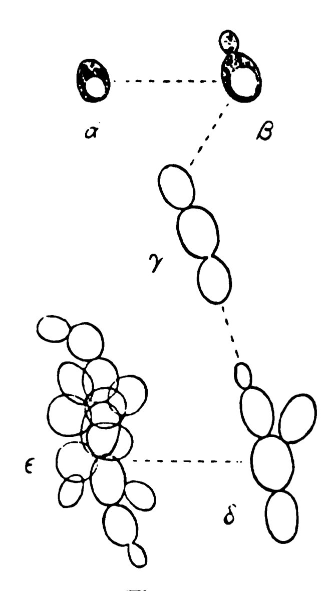


Fig. 31.
Saccharomyces piriformis WARD. Zelle α, im hängenden Tropfen Gingerbeergelatine eingebettet, trieb bei 15° C binnen $4^1/_2$ Stunden eine Knospe (β) hervor. Nach weiteren 14 Stunden waren schon drei normalgroße Zellen (γ) vorhanden. Sie wuchsen dann binnen 10 Stunden zum Verband δ heran, der schließlich $13^1/_2$ Stunden später zur Kolonie ε geworden ist. Nach M. WARD.

Die erwähnte Doppelschichtigkeit der Scheidewand zwischen zwei Sproßzellen gestattet das Sonderdasein einer jeden einzelnen von ihnen und erleichtert deren Trennung voneinander. Diese tritt denn auch in vielen Fällen ein. Der Nährboden, in dem sich dieser Vorgang der Sprossung und baldigen Trennung der Sproßzellen abspielt, wird also eine verhältnismäßig große Zahl von einzelnen Zellen aufweisen. In anderen Fällen wieder bleiben, innerhalb gewisser Grenzen, die nach und nach entstehenden Sprosse (1.—n-ter Ordnung) im Zusammenhang und es entsteht so eine baumartig verzweigte Kolonie, die man **Sproß-**

verband (Sproßkolonie) nennt (*Fig. 31*). In der älteren Literatur wurden Sproßverbände, deren Glieder annähernd kugelig und in ihrem Verein also einer engen Aneinanderreihung von kleinen Knoten (lat. *Torula*) ähnlich sind, allgemein als **Torula** bezeichnet. Dieser Name für eine Wachstumsgestalt ist dann zum Gattungsnamen für eine Reihe von Arten geworden, von denen einige auch Alkoholgärung zu erregen vermögen und im vierten Bande besprochen werden. *Fig. 32* gibt ein Beispiel einer solchen *Torula*-Art.

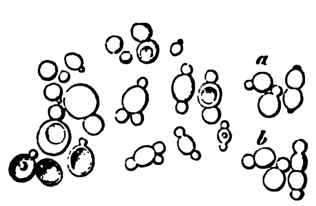


Fig. 32. *Torula*-Art in Bierwürze wachsend. In *a* eine Gruppe sprossender Zellen, deren Zustand nach Ablauf einer Stunde in *b* dargestellt ist. — Vergr. ca. 1000. Nach HANSEN.

Die Gestalt der Sprosse ist übrigens bei ein und derselben Art auch von der Temperatur und den Ernährungsbedingungen abhängig, wie durch E. CHR. HANSEN an Bierhefen und Weinhefen dargelegt worden ist. Im Innern von Bierwürze, also untergetaucht, gezüchtet, treiben sie Mycelien, welche aus Kurzsprossen aufgebaut sind; hingegen an der Oberfläche der Flüssigkeit, also bei reichlichem Luftzutritt gehalten, solche, die aus Langsprossen sich zusammensetzen. Näheres darüber bringt das 1. Kapitel des 4. Bandes.

Die Bildung von Sproßmycelien wurde zuerst an den gärungserregenden Hefenpilzen beobachtet und für eine diesen allein zukommende Entwicklungsart gehalten. TH. BAIL (1) hat dann im Jahre 1857 zuerst gezeigt, daß diese Erscheinung auch bei gewissen *Mucor*-Arten, über die später noch genauer gehandelt werden wird, hervorgerufen werden könne, wenn man sie in einer zuckerhaltigen Nährlösung untergetaucht hält. Ausführlichere Beobachtungen dieser Entwicklungserscheinung bei *Mucor*-Arten verdanken wir O. BREFELD (2). Bei *Mucor racemosus* ist es die in der Nährflüssigkeit sich ansammelnde Kohlensäure, welche auf die Zellen, von denen sie hervorgebracht wird, derartig einwirkt, daß diese nur kugelige Sproßzellen treiben und also nicht zu einem langen vielverzweigten Schlauchmycel sondern zu einem kurzgliedrigen Sproßmycel auswachsen. *Mucor mucedo* hingegen bringt unter solchen Bedingungen derlei Sproßzellen nicht hervor, wohl aber sollen, zufolge BREFELD, seine Sporen in einer an Citronensäure reichen Nährlösung zu großen Kugeln anschwellen, welche dann eine Anzahl von gleichgestalteten Tochterzellen hervortreiben, die aber schließlich absterben. *Mucor locusticida*, der Pilz der südafrikanischen Heuschreckenepizootie, erzeugt nach G. LINDAU (2) bei Kultur unter dem Deckglase, also bei Luftabschluß, riesige kugelige Zellen, die hefenzellenähnlich wieder zu Kugeln aussprossen. Weiter zeigte dann BREFELD, daß die Fähigkeit, Sproßkonidien zu bilden, auch bei anderen Pilzgruppen ungemein verbreitet ist. Er bewies das allgemeine Vorkommen der Sproßkonidien bei den Brandpilzen und bei vielen Mycomyceten, worüber im 10. Kapitel noch einige Mitteilungen gemacht werden sollen.

Man kann nun alle E u m y c e t e n, welche überhaupt imstande sind, S p r o ß m y c e l i e n hervorzubringen, in drei G r u p p e n sondern. Die Pilze der e r s t e n Gruppe, welche die **echten Sproßpilze** umfaßt, pflanzen sich unter normalen Ernährungsbedingungen a u s s c h l i e ß l i c h durch Sproßkonidien fort. Zu ihnen gehören alle in den Gärungsgewerben tätigen Saccharomyceten ohne Ausnahme, ferner die *Mycoderma*- und *Torula*-Arten u. a. m. Die z w e i t e Gruppe umfaßt diejenigen Eumyceten, die

unter normalen Ernährungsbedingungen sowohl ein Fadenmycel als auch ein Sproßmycel entwickeln können. Auch sie werden bisweilen als Sproßpilze bezeichnet. Man rechnet hierzu *Monilia*-Arten (*Fig. 33*), *Dematium* u. a. Die dritte Gruppe endlich umfaßt diejenigen Formen,

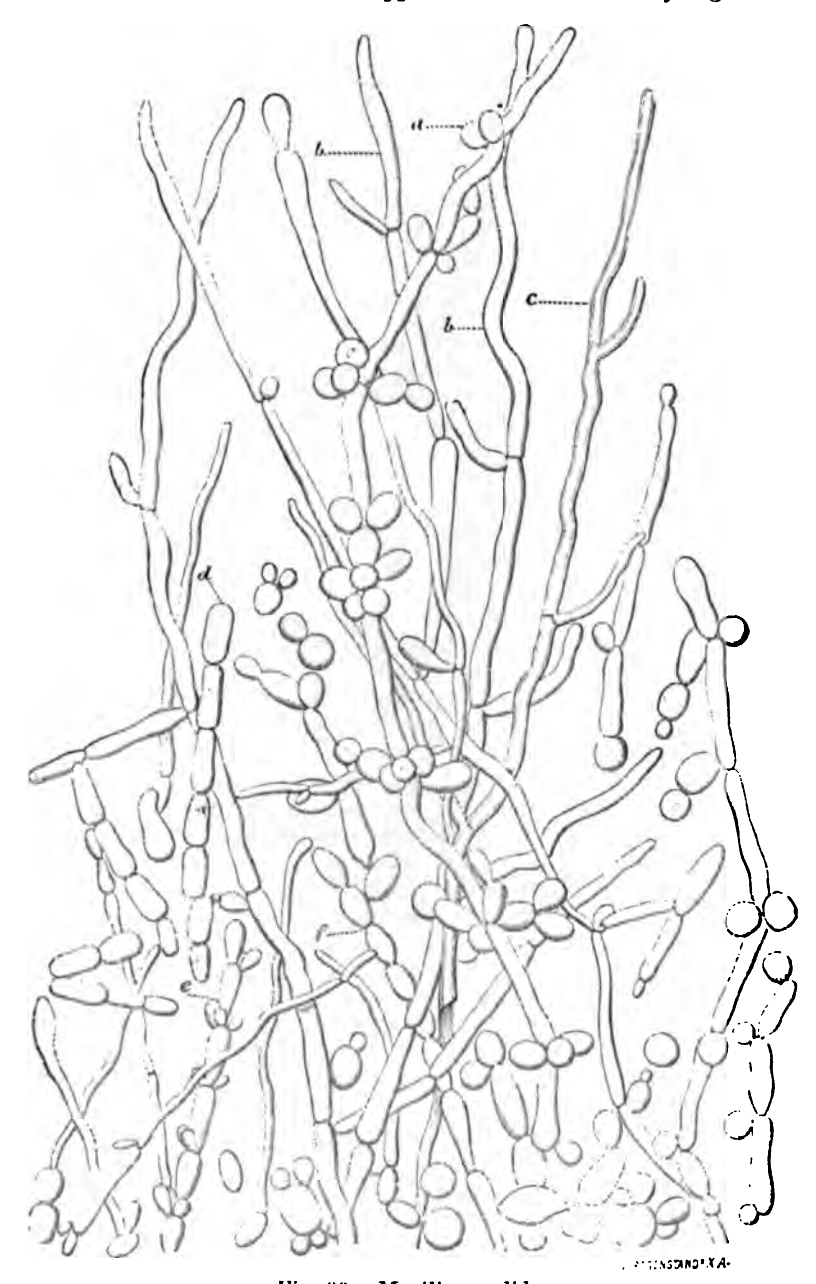


Fig. 33. Monilia candida.
Hautvegetation auf Bierwürze. In *b* u. *c* typische Mycelformen; in *a*, *e*, *f* die Sproßformen. — Vergr. ca. 1000. Nach Hansen.

welche nur unter außergewöhnlichen Bedingungen ein Sproßmycel bilden, während sie für gewöhnlich nur Fadenmycelien hervorbringen. Hierher gehören die *Mucor*-Arten, die Brandpilze und alle diejenigen Mycomyceten, welche als Nebenfruchtformen Sproßkonidien besitzen. Wie wir also sehen, bezeichnet der Ausdruck „Sproßpilze" durchaus nicht etwa eine systematische Einheit; vielmehr verteilen sich die Sproßpilze auf alle Gruppen des Pilzsystems.

Wenn man von Hefen- oder Sproßkonidien spricht, so bezieht sich die Bezeichnung Konidien auf die äußerliche Aehnlichkeit mit den diesen Namen tragenden exogen entstehenden Sporen der Pilze. Wir müssen streng daran festhalten, daß die Sproßzellen keine Vermehrungszellen fruktifikativer Art sind, sondern nur myceliale Vermehrungszellen, die rein vegetativ entstehen und mit den eigentlichen Fortpflanzungsorganen gar nichts zu tun haben. Wollte man die Sprossung als eine wirkliche Fruktifikation auffassen, so wäre ihr Auftreten bei den allerverschiedensten, untereinander nicht im mindesten verwandten Pilzgruppen phylogenetisch ganz unerklärbar, während sich bei der strengen Festhaltung des rein vegetativen Charakters ihr Auftreten durch die Einwirkung äußerer Bedingungen zwanglos erklären läßt.

§ 46. Die Gewebeverbände.

Wir hatten bei der Besprechung des typischen Mycels gesehen, daß sich aus den Sporen Fäden entwickeln, die durch Spitzenwachstum sich verlängern und (bei den Mycomyceten) aus hintereinander von der Endzelle abgegliederten Zellen bestehen. Im Gegensatz zu dieser Fadenbildung kommt Zellplatten- oder Zellkörperbildung nur äußerst selten zustande. Wir treffen auf solche Ausnahmen nur bei Gemmen oder Sporen, während sie beim vegetativen Mycel noch nicht beobachtet worden sind.

Die Entwicklung zu Gewebeverbänden erfolgt vielmehr unter ganz anderen Voraussetzungen wie bei anderen Pflanzen. Alle **Gewebe** im Pilzreich sind aus Fäden zusammengesetzt, so daß man recht eigentlich nicht die Zelle sondern den Faden, also schon einen Zellverband, als Grundelement der Pilzgewebe betrachten kann. Jedes Pilzgewebe entsteht durch Verflechtung und Verknäuelung von Pilzhyphen. Man sollte daher bei einem so einfachen Bauprinzip annehmen, daß es nur wenige Typen von Geweben geben könnte; aber das ist nicht der Fall. Im Gegenteil zeigt sich im Gegensatz zu den höheren Pflanzen eine viel größere Mannigfaltigkeit im äußeren Habitus und im mikroskopischen Bild der Pilzgewebe, was wohl hauptsächlich dem Umstande zuzuschreiben ist, daß die unterscheidbaren Gewebetypen durch alle nur denkbaren Uebergänge verbunden sind. Im folgenden können daher nur wenige Beispiele von Pilzgeweben angeführt werden, welche von größerer Wichtigkeit sind. Nebenbei mag bemerkt sein, daß unsere anatomischen Kenntnisse vom Pilzkörper zum Teil noch sehr mangelhaft sind, namentlich ist der Aufbau der Mycomyceten noch wenig studiert.

Als einfachsten Versuch zu einer Art von Gewebebildung könnte man die **Fusionsbildungen** bezeichnen, die bei Mycelien nicht selten sind. Mustert man typische Mycelien von Schimmelpilzen, so wird man häufig **Anastomosen** zwischen zwei benachbarten Pilzfäden treffen. Die beiden Fäden verwachsen entweder unmittelbar (z. B. bei Kreuzungen)

oder senden je einen Zweig aus, deren Spitzen sich berühren und mit einander verschmelzen. In beiden Fällen wird die trennende Membran gelöst und offene Kommunikation hergestellt. Ganz besonders häufig treten Anastomosen auf, wenn in einem Kulturtropfen zahlreiche Sporen 5 von Ascomyceten zur Keimung gebracht werden. Eine andere Fusionserscheinung ist die **Schnallenbildung**, die sich an den Mycelien der Basidiomyceten findet. Zur Bildung einer Schnalle wird die Membran zweier Zellen neben einer Scheidewand etwas vorgestülpt, bis sich die beiden Vorstülpungen berühren. Nach Resorbierung der Membran ent- 10 steht eine offene Verbindung zwischen zwei benachbarten Zellen desselben Fadens, die gewöhnlich aber durch Bildung einer Querwand (oder auch zweier) wieder aufgehoben wird. Die fertige Schnallenzelle sieht wie ein kleiner 15 Henkel an der Querwand aus (*Fig. 34*). Aehnliche Fusionserscheinungen treten auch bei den Sporen mancher Ustilagineen und Konidienpilze nicht selten auf.



Fig. 34. Schnallenverbindung im Mycel von *Hypochnus centrifugus*. — Vergr. 390. Nach TULASNE.

Die eigentlichen Gewebe entstehen entweder 20 dadurch, daß sich im allgemeinen parallele, fast unverzweigte Hyphen aneinander legen und sogenannte Stranggewebe bilden, oder dadurch, daß die Hyphen unter Bildung von reicher Verzweigung knäuelartig durcheinander wachsen 25 und auf diese Weise dichte Gewebemassen bilden. Ganz im allgemeinen kann man nach G. LINDAU's (1) Vorschlag die aus Fäden entstehenden Gewebe als **Plectenchym** bezeichnen, wodurch nur der Aufbau aus fädigen Elementen, nicht aber die Art der Verflechtung, gekennzeichnet wird.

30 Als einfachster Typus mag das **Hautplectenchym** gelten, das aus mehr oder weniger dichter Verflechtung von Hyphen besteht mit der Tendenz, Flüssigkeiten oder Nährsubstrate hautartig zu überziehen. Die einfachste Bildung dieser Art stellen die **Kahmhäute** dar, denen sich die Hautbildung bei *Oidium lactis* anschließt. Bekannt sind die 35 dicken Decken, welche *Penicillium glaucum* und andere Schimmelpilze auf der Oberfläche von Nährflüssigkeiten und festen Substraten bilden; sie bestehen aus ganz gleichmäßig, nicht allzu dicht verflochtenen Hyphen und bilden noch keine eigentlichen Gewebemassen.

Einen weiteren Fortschritt in der Differenzierung des Gewebe- 40 aufbaues zeigt das **Strangplectenchym**, also die **Mycelstränge** und die **Mycelhäute**. Es besteht aus vorwiegend parallel verlaufenden Fäden, die in mehr oder weniger großer Zahl zu feinen Fäden oder dicken Strängen oder weit ausgebreiteten, hautartigen Ueberzügen zusammentreten können. Dabei finden häufig noch Anastomosenbildungen 45 zwischen den benachbarten Fäden statt. Solche aus einer geringen Zahl von Hyphen gebildeten Strangplectenchyme finden wir namentlich häufig bei Fruchtträgern von Konidienpilzen; sie werden da gewöhnlich **Coremien** genannt. Manche Arten der Stilbeen (z. B. *Stilbum*, *Stysanus*) kommen in Gärungsbetrieben am Holzwerk nicht selten vor; sie besitzen einen 50 aus parallelen Hyphen zusammengesetzten Fruchtstiel. Dicke Stränge, welche aus sehr zahlreichen Parallelhyphen bestehen, bilden häufig den vegetativen Teil von Pilzen, die auf dem Erdboden leben. Indessen tritt bei diesen Strangbildungen sehr bald eine Differenzierung in mehrere

Gewebeschichten ein. Wir finden außen eine **Rinde**, die aus sehr dicht gelagerten und nicht ausschließlich parallel verlaufenden Hyphen besteht und meist dunkel gefärbt ist, im Innern dagegen eine lockere, weiße **Markschicht**, die aus parallelen Hyphen besteht und wohl hauptsächlich die Leitung der Stoffe besorgt. Dabei kommen in der Rinde bereits Gewebe vom Aussehen von Paraplectenchym zustande. Solche mehr oder minder kompliziert gebauten Stränge (auch **Rhizomorphen** genannt) finden sich bei vielen holzbewohnenden Hutpilzen, wo sie oft meterlange, zwirnsfaden- bis bindfadenstarke, schwarze, einfache oder verzweigte Stränge bilden, die unter der Rinde der Bäume sich hinziehen. Am besten untersucht sind die Rhizomorphen des Hallimasch (*Armillaria mellea*). Die Mycelhäute können wir als mehr oder weniger differenzierte Stränge von flächenartiger Ausdehnung ansehen. Untersuchungen über ihre Bildung wurden bisher noch nicht angestellt. Am bekanntesten sind die Häute von holzzerstörenden Pilzen (z. B. vom Hausschwamm), die auf dem Holze oder in dessen Lücken weiße, feste Ueberzüge oder mehr strangartige Partien bilden.

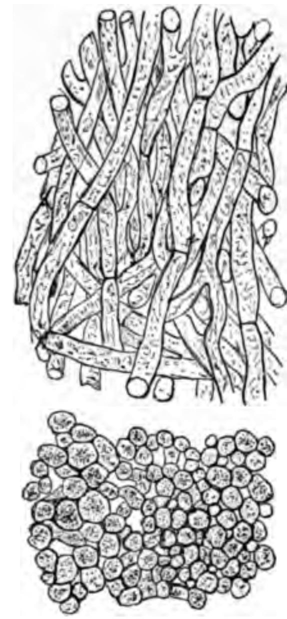


Fig. 35. Boletus edulis. Längsschnitt (oben) und Querschnitt (unten) durch den Stiel des Fruchtkörpers (Hutes) des Steinpilzes (*Boletus edulis*). — Vergr. 300. Nach STRASBURGER.

Fig. 36. Coprinus stercorarius. Stück eines Längsschnittes von einer Lamelle, *t* Trama, *p* die kleinen Paraphysen, *c* Cystiden, *b* Basidien mit ihren vier Basidiosporen. — Nach BREFELD.

Als einen Uebergang zur nächsten Gruppe können diejenigen Gewebe betrachtet werden, welche zwar vorwiegend aus parallelen Hyphen aufgebaut sind, aber im Innern von Pilzkörpern, umgeben also von anderen Gewebearten, liegen. Dahin gehören die Stranggewebe aus den Hutstielen von Hutpilzen, so z. B. des Steinpilzes (*Fig. 35*), des Champignon etc., dann das Lamellengewebe (*Fig. 36*), das Markgewebe aus den Stromata großer Pyrenomyceten (z. B. *Xylaria*), das Markgewebe der bekannten Bartflechten (*Usnea*) u. a. m. Alle diese Gewebe sind aber mit den Prosoplectenchymen der folgenden Gruppe durch allerlei Uebergänge verbunden. Besonders interessant sind die bei den Hutpilzen vorkommenden, äußerst mannigfachen Plectenchyme. Da aber die genauere Schilderung derselben gleichbedeutend mit einer ausführlichen Beschreibung des Baues der Fruchtkörper sein würde, so möchte ich auf die Einzelheiten verweisen, welche bei der Schilderung der holzzerstörenden Pilze im 11. Kapitel des 3. Bandes gegeben werden.

Als dritte Gruppe mögen diejenigen Plectenchyme hingestellt werden, deren Hyphenelemente sich so dicht verflechten und verknäueln, daß ein kompakter Gewebekörper oder ein gleichartiger Gewebekomplex innerhalb anderer Gewebe entsteht. Je nach der Dichte der Verflechtung unterscheidet man verschiedene Plectenchyme. Am bekanntesten ist das **Paraplectenchym,** bisher gewöhnlich **Pseudoparenchym**[1]) genannt, das im Querschnitt fast den Eindruck des Parenchyms einer höheren Pflanze macht. Die Verflechtung der Hyphen ist eine so dichte und die Septierung so reichlich, daß das ganze Gewebe aus nebeneinander liegenden, isodiametrischen Zellen zu bestehen scheint. Solche Gewebe finden sich meist als Rindengewebe ausgebildet, z. B. sehr schön bei den Flechten, bei den Bechern von vielen Becherpilzen (Discomyceten), und an den Stellen, an denen junge Fruchtanlagen entstehen (z. B. Anlage der jungen Hüte bei Hutpilzen, der Apothecien bei den Ascomyceten etc.). Am bekanntesten ist und am häufigsten findet sich das Paraplectenchym in den Sklerotien oder Dauermycelien (Hartmycelien), die in vielen Gruppen des Pilzreiches auftreten. Unter **Sklerotien** versteht man harte, knollige Gebilde, welche Ruhezustände darstellen. Entsprechend dieser Funktion besitzen sie kleine, eng aneinander schließende Zellen, welche den typischen Charakter eines paraplectenchymatischen (pseudoparenchymatischen) Gewebes darstellen (*Fig. 37*). Nach dem Rande des Sklerotiums zu werden die Zellhäute dicker und nehmen dunkle Färbung an (*Fig. 37, a)*; nach dem Innern zu lockert sich bei größeren Sklerotien meist der Gewebeverband etwas und wir erhalten dort ein lockeres Paraplectenchym oder auch ein Prosoplectenchym (*Fig. 37, b*). Außerdem finden sich in den Zellen Nährstoffe in großer Menge angehäuft. Am bekanntesten von allen Sklerotien ist das **Mutterkorn.** Es stellt eine harte Dauerform dar, die nach längerer Ruheperiode wieder zu neuem Leben erwacht, fruktifikative Organe hervortreibt und also den Eintritt günstiger Umstände abwarten und ausnutzen kann, um die Erhaltung der Art über die ungünstige Zeit hinweg zu ermöglichen. Außer diesem bekanntesten Dauermycel seien hier noch als Beispiele angeführt: die Sklerotien der



Fig. 37. Claviceps purpurea TUL. (Mutterkorn). Querschnitt durch ein Sklerotium. *a* die peripherischen Gewebeschichten von paraplectenchymatischem Aussehen, *b* die weiter innen liegenden Gewebe, welche prosoplectenchymatischen Bau zeigen. — Vergr. 360. Nach v. TAVEL.

[1]) Der Ausdruck Pseudoparenchym ist zwar äußerlich scheinbar glücklich gewählt, enthält aber nichts über die Entstehung des Gewebes. Da durch den Ausdruck Plectenchym mühelos jedes Fadengewebe durch Beiwort oder Zusammensetzung sich charakterisieren läßt, so gebe ich im Interesse einer einheitlichen Gewebenomenklatur bei den Pilzen den Namen Pseudoparenchym ganz auf. Es wird freilich schwer sein, diese Bezeichnung auszurotten, da nichts schwerer zu verdrängen ist als ein Terminus technicus, selbst wenn er noch so wenig bezeichnend ist.

Sclerotinia-Arten in den Früchten der Preißelbeeren u. a., die Sklerotien der Basidiomyceten (*Collybia-*, *Coprinus*-Arten etc.), die als *Pietra fungeia* bekannten, riesenhaften Dauermycelien von eßbaren *Polyporus*-Arten und Agaricinen, die so äußerst seltenen Sklerotien bei *Penicillium glaucum* usw.

Ueber die künstliche Herbeiführung der Bildung solcher Dauer- 5 formen hat J. Ray (1) eine Beobachtung gemacht. Von den Speicherstoffen, welche in den Zellen der Sklerotien angesammelt sind, ist als Quelle von leicht auszulösender chemischer Energie und ergiebiger Wärmeentwicklung insbesondere das Glycogen von großer Wichtigkeit. A. de Bary (1) hat es wohl zuerst, allerdings ohne namentliche Nennung, 10 im Sklerotium von *Coprinus stercorarius* bemerkt, W. Rothert (1) hat es dann in demjenigen von *Sclerotium hydrophilum* angetroffen.

Neben diesem typischen Paraplectenchym kann man ein typisches Prosoplectenchym unterscheiden, das sich in seinem äußeren Aussehen etwa dem Prosenchym der höheren Pflanzen nähert. Man hat also auf 15 Schnitten mehr oder weniger lange Fadenstücke vor sich, dazwischen auch einzelne runde Querschnitte von Hyphen (*Fig. 37, b*). Das Prosoplectenchym in typischer Ausbildung findet sich in vielen Sklerotien, ferner bei größeren Ascomycetenfruchtkörpern als Zwischengewebe zwischen Rindenplectenchym und Mark, bei Fruchtkörpern vieler Discomyceten, häufig 20 beim Stromagewebe der Ascomyceten, bei den meisten Flechten am Mark oder als Mark u. s. f. Je nach der Dichtigkeit der Hyphenverflechtung gewinnt das Gewebe ein ganz verschiedenes Aussehen. Wir können alle Uebergänge vom lockeren Flechtwerk, das kaum als Gewebe anzusehen ist, über dichte Hyphenfilze (Plectenchym) zu Prosoplectenchym bis zum 25 Paraplectenchym verfolgen. Durch diese große Formenfülle wird die scharfe Charakterisierung bestimmter Gewebearten außerordentlich erschwert. Am besten dürfte daher, wie es hier geschehen ist, die feste Definierung gewisser Grenzausdrücke sein, deren Uebergänge zueinander dann durch spezialisierende Zusätze von Eigenschafts- oder Hauptwörtern 30 zu dem Grundwort Plectenchym charakterisiert werden müssen.

Nachdem im vorstehenden die pilzlichen Gewebe von rein histologischen Gesichtspunkten aus besprochen worden sind, sollen sie jetzt noch vom physiologischen Standpunkt aus, d. h. mit Bezug auf ihre Funktion für die Lebenstätigkeit des Pilzes, betrachtet werden. Seitdem Haber- 35 landt (1) die Einteilung der Gewebe der höheren Pflanzen nach ihrer physiologischen Leistung mit so großem Erfolge vorgenommen hat, dürfte eine derartige Betrachtungsweise eigentlich als selbstverständlich erscheinen. Trotzdem hat bisher niemand einen Versuch in dieser Richtung unternommen, abgesehen von den kurzen Bemerkungen, die Haber- 40 landt selbst in der zweiten Auflage seiner physiologischen Pflanzenanatomie macht. Eine Durcharbeitung der Pilzanatomie würde für diese Betrachtungsweise sehr viel Material ergeben; nach unseren heutigen Kenntnissen stehen uns vorläufig nur wenige Tatsachen zur Verfügung, die hier ihren Platz finden können. In der Einteilung der Gewebe- 45 systeme folge ich Haberlandt.

Das **Hautsystem** dient zum Schutz der inneren Gewebe. Wie bereits oben auseinandergesetzt ist, werden bei den meisten Pilzen die äußeren Hyphenlagen des Fruchtkörpers oder des Vegetationskörpers auf besondere Weise umgebildet. Meist entstehen kleinzellige Paraplecten- 50 chyme, die im Querschnitt ganz den Eindruck einer Blattepidermis machen (*Fig. 38*). Namentlich finden sich solche Rindengewebe bei den Sklerotien, bei vielen Flechten usw. Bei holzigen Pilzen (z. B. Poly-

poreen) sind die äußeren Hyphenschichten senkrecht nach außen gerichtet und bilden ein pallisadenartiges, aus sehr dicken Hyphenenden bestehendes Rindengewebe. Eine Verkorkung der äußersten Schicht findet niemals statt. Außerordentlich häufig ist ein mehr oder weniger dichter Haarüberzug zum Schutz gegen Verdunstung. Junge Fruchtkörperanlagen, junge Sklerotien usw. werden fast ausnahmslos durch einen dichten, haarartigen Hyphenfilz geschützt.



Fig. 38.
Sclerotinia Fuckeliana.
Stück eines dünnen Querschnittes durch ein Sklerotium. *r* das Rindengewebe, nach innen Prosoplectenchym. — Vergr. 390. Nach DE BARY.

Das **mechanische System** kommt bei den Pilzen in mannigfacher Weise zur Ausbildung, denn die einzelnen Formen werden je nach ihrer Lebensweise in verschiedener Weise durch äußere Kräfte in Anspruch genommen. Zugfest müssen alle strangartigen Organe gebaut sein, so z. B. die Rhizomorphen, die Stränge der Phallaceen. Ein bekanntes Beispiel für einen zugfesten Strang ist das Markgewebe der Bartflechten (*Usnea*), das sehr stark auf Zug beansprucht werden kann, ehe es zerreißt. Auf Biegungsfestigkeit werden alle aufrechten Organe in Anspruch genommen, weshalb wir hier meist parallele Hyphenzüge, die fest miteinander verbunden sind, finden und im Innern des Organs eine Höhlung, so daß eine biegungsfeste Röhre entsteht. Das ist z. B. bei den meisten Stielen der Hutpilze, bei den aufrechten Stromata der Xylarien usw. der Fall. Eine andere Art, denselben Zweck zu erreichen, besteht darin, daß bei längeren Thalluslappen die fast parallelen lockeren Markhyphen nach der Peripherie zu umbiegen und nun radiär verlaufen, so daß die Enden eine pallisadenartige Rinde bilden. Solche Organe sind wohl biegungsfest, nicht aber zugfest gebaut. Hierher gehören zahlreiche Flechten, z. B. die Lackmusflechte *Roccella*. Auch für Druckfestigkeit ließen sich bei Pilzen Beispiele anführen. Alle festen paraplectenchymatischen Gewebemassen in Sklerotien, Stromata usw. können als druckfest bezeichnet werden.

Von einem **Absorptionssystem** kann eigentlich bei allen Pilzen gesprochen werden, denn jedes typische Mycel dient eben zur Aufnahme von Nahrungselementen. Indessen kommen doch bei manchen Formen bestimmte, auf Nahrungs- oder Wasseraufnahme eingerichtete Bildungen vor. So besitzen viele Pilze rhizoidenartige Fäden oder Fadenbündel, welche wie die Wurzelhaare zur Aufnahme von Stoffen aus dem Nährsubstrat dienen. Demselben Zwecke, vielleicht allerdings auch noch mit dem Nebenzwecke des Verankerns am Substrat, dienen bei vielen blattartigen Flechten die zahlreichen Rhizoiden auf der Unterseite. Bei parasitischen Pilzen (Rostpilzen, Mehltaupilzen, Peronosporeen, parasitischen Mucoraceen usw.) finden sich Haustorien, die in die Nährzellen eindringen und zum Aussaugen des Inhaltes bestimmt sind.

Das **Leitungssystem** als solches ist bei den Pilzen nur in wenigen Fällen ausgebildet. Am bekanntesten sind die Milchsaftgefäße bei den *Lactaria*-Arten, die den ganzen Fruchtkörper durchziehen und bei Verletzungen ihren Milchsaft ausfließen lassen. Andere Hutpilze besitzen röhrenförmige Hyphen, die einen harzerfüllten Inhalt besitzen. Spätere genaue Untersuchungen dieser Leitungsbahnen werden gewiß noch viele andere Tatsachen ans Licht bringen, die hier angeführt werden könnten.

Als **Speichersysteme** kommen nicht viele Bildungen in Betracht. Als bestes Beispiel können die Sklerotien gelten, die in ihren Markzellen eine Menge von Reservestoffen aufspeichern und bei der Keimung wieder verwenden. Wasserspeichergewebe fehlt bei den Pilzen; in gewissem Sinne könnte jedes pilzliche Gewebe als wasserspeichernd gelten, da es 5 Wasser begierig in seine Zwischenräume aufnimmt und allmählich verwendet.

Ein eigentliches **Durchlüftungssystem** fehlt bei den Pilzen. Selbstverständlich besitzen alle pilzlichen Gewebe zwischen den Hyphen Zwischenräume, die mit Luft erfüllt sind. Meist sogar ist der Zusammen- 10 hang der Hyphen so locker, daß mächtige Zwischenräume vorhanden sind, so z. B. im Markgewebe der Hutpilze und der Flechten. Bestimmt vorbezeichnete Stellen, wie die Stomata, durch die eine Kommunikation der Außenluft mit der Gewebeluft stattfinden könnte, kennt man bei den Pilzen nicht. Selbst bei dem festesten Hautgewebe, das 15 ein Sklerotium umschließt, gibt es doch immer noch gelegentliche kleine Lücken, die diesen Zusammenhang vermitteln. Andeutungen zu Spaltöffnungen kommen dagegen bei Flechten vor (*Sticta*).

Ueber **Sekretions- und Exkretionsorgane** bei Pilzen sind wir nur höchst unvollkommen unterrichtet, weil wir nur in den wenigsten Fällen 20 darüber Bescheid wissen, ob der Inhaltsstoff einer Hyphe als Ausscheidung oder als Reservestoff anzusehen ist. Solche Zellen, in denen harzartige Stoffe vorhanden sind, kommen bei niederen Basidiomyceten recht häufig vor. Zu erwähnen würden die Kalkoxalatabscheidungen sein, die sich allerdings nur in wenigen Fällen, soweit es bisher bekannt ist, auf be- 25 stimmte Zellen beschränken (z. B. im Strangplectenchym von *Phallus*), sondern meist in oder auf beliebigen Hyphen abgeschieden werden.

Zum Schluß seien noch einige Bemerkungen über das **Scheitel- und Dickenwachstum** gegeben. Ein Scheitelwachstum, wie es bei den höheren Gewächsen vorkommt, erscheint für die Pilze von vornherein 30 ausgeschlossen, da ja das eigentliche Fortwachsen in die Scheitelzelle jedes einzelnen Fadens verlegt ist. Trotzdem aber können Bilder vorkommen, die in frappanter Weise an manche Scheitelbildungen höherer Gewächse erinnern. So bietet das Scheitelende eines Rhizomorphenstranges eines Hallimasch fast das Bild einer Wurzelspitze dar; gleich- 35 wohl natürlich kann man deutlich sehen, daß das eigentliche Weiterwachsen auf dem Scheitelwachstum der Hyphen beruht, obgleich unmittelbar hinter dem Scheitel bereits die Bildung von Paraplectenchym erfolgt. Wir wissen über das Scheitelwachstum größerer Pilz- und Flechtenkörper noch recht wenig und sind deshalb über viele Vorgänge, 40 die sich dabei einstellen, noch nicht genügend unterrichtet. Auch das Dickenwachstum muß sich natürlich in ganz anderen Formen abspielen als bei den höheren Gewächsen, wo eine meristematische Schicht (Cambium) für das Wachstum in die Dicke sorgt. Wir finden bei holzigen Polyporusarten, bei hypoxyleenartigen Fruchtkörpern (*Dal-* 45 *dinia* etc.) Bildungen, die wie Jahresringe aussehen und in konzentrischen Schichten den Fruchtkörper durchsetzen. Sie kommen dadurch zustande, daß mit der Reife der Sporen der Fruchtkörper sein Wachstum einstellt; dann aber wachsen vom Hymenium her neue Hyphen hervor und bilden eine zweite Schicht, die abermals mit der Bildung einer Fruchtschicht 50 abschließt. Dieser Vorgang wiederholt sich oftmals und führt zur Bildung jener riesigen, oft mehrere Fuß breiten und hohen Holzschwämme, die den Bäumen so verderblich werden können.

Anhangsweise sei hier noch einiges über den **anatomischen Aufbau der Flechten** mitgeteilt, soweit es zum Verständnis der wenigen in der Technik gebrauchten Arten notwendig ist. Die Flechten sind zusammengesetzte Thallophyten, d. h. sie bestehen aus einer Vergesell-5schaftung von Algen und Pilzen. Das Verhältnis, in welchem die beiden Komponenten zueinander stehen, hat man als Symbiose oder Konsortium bezeichnet; in Wirklichkeit ist es nichts anderes als ein modifizierter Parasitismus. Während die Alge dem Pilze die organischen Stoffe durch ihre Assimilationsorgane bereitet, liefert ihr dieser die 10Feuchtigkeit, vielleicht damit auch die anorganischen Salze. Genaueres wissen wir darüber nicht. Das Formbestimmende in diesem Konsortium ist der Pilz; nur bei einigen Gallertflechten gibt die Alge dem Ganzen ihre Gestalt. Nach dem Sitze der Alge kann man einen homöomeren Flechtenthallus, bei dem die Algen im ganzen Thallus gleichmäßig ver-15teilt sind, und einen heteromeren Flechtenthallus, der die Algen nur an bestimmten Stellen besitzt, unterscheiden. Bei der letzteren, als der weitaus häufigsten Art, unterscheidet man die Rindenschichten, Gonidienschichten und Markschicht. Bei rein dorsiventralem Bau, wie z. B. beim isländischen Moos (*Cetraria*) und bei *Parmelia*, besitzt der Thallus eine 20obere epidermale Schicht, darauf folgt die Gonidienschicht, in deren Pilzgewebe die Algen sich eingelagert finden, dann die Markschicht und die untere Epidermis. Die Epidermisschichten bestehen meist aus Paraplectenchym, die Gonidien- und Markschicht dagegen aus lockerem Plectenchym, das aber häufig prosoplectenchymatischen Charakter an-25nimmt. Bei radiärem Bau dagegen (z. B. *Roccella*, *Usnea*, *Cladonia*) nimmt die Mitte ein Markzylinder ein, der von einer Gonidienzone umhüllt wird, die nach außen mit einer Epidermisschicht abschließt. Zur Befestigung auf der Unterlage dienen häufig Rhizoiden oder Rhizinen an der unteren Epidermis. Neben diesem typischen Bau kommen zahllose 30Abänderungen vor, auf die hier nicht einmal hingewiesen werden kann.

Die Algen, welche als Ernährer im Flechtengewebe sich befinden, gehören den verschiedenen Ordnungen des Algensystems an. Neben blaugrünen Formen der Phycochromaceen finden wir viele Grünalgen. Die häufigste Gonidienform ist *Cystococcus humicola*, die in Parmelien, 35Cladonien, Usneen etc. vorkommt. Mindestens ebenso häufig, allerdings mehr bei niederen Flechten (Graphideen), ist *Trentepohlia aurea*, die z. B. in *Roccella* die Gonidien bildet. Auf weitere Algenformen kann hier nicht eingegangen werden.

Literatur

zum Kapitel Morphologie der Zellverbände.

***Bail,** Th., (1) Kunst- u. Gewerbeblatt d. polytechn. Vereins f. Bayern, 1857. ***de Bary,** A., (1) Vergl. Morphologie u. Biologie der Pilze etc., 1884. ***Brefeld,** O., (1) Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie, H. I—XII. — (2) Flora, 1873, Bd. 56, S. 385. ***Haberlandt,** (1) Physiologische Pflanzenanatomie, Leipzig 1896, 2. Aufl. ***Lindau,** G., (1) Festschr. f. Schwendener, 1899. — (2) Notizbl. des K. bot. Gart. u. Mus., Berlin 1901, n. 26. ***Ray,** J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 123, S. 907. ***Rothert,** W., (1) Bot. Ztg., 1892, Bd. 50, S. 321. ***v. Tavel,** (1) Vergl. Morphologie der Pilze, Jena 1892. ***Zopf,** W., (1) Die Pilze. Breslau 1890.

9. Kapitel.

Die Fruktifikationsorgane.

§ 47. Die Zygosporenfruktifikation.

In den vorhergehenden zwei Kapiteln haben wir den vegetativen Teil des Thallus kennen gelernt; jetzt sollen die Fortpflanzungsorgane einer näheren Betrachtung unterzogen werden. Nur bei wenigen Pilzen hat sich der vegetative Teil des Thallus noch nicht von dem fruktifikativen gesondert, wie z. B. bei vielen Chytridiaceen, den echten Hefen usw.; meist jedoch treffen wir eine scharfe Sonderung beider Teile, die um so weiter geht, je höher wir im Pilzreich aufsteigen.

Die wesentliche Aufgabe der fruktifikativen Organe besteht in der Hervorbringung eines Gebildes, das befähigt ist, zu einem neuen Individuum der betreffenden Art heranzuwachsen. Derartige Gebilde, welche also der Fortpflanzung unmittelbar dienen, bezeichnet man im Reiche der Pilze allgemein als **Sporen.** Sie entstehen auf zweierlei Art. Entweder vereinigen sich vor ihrer Bildung zwei mehr oder weniger differente Zellen und geben dadurch Anlaß zur Entstehung von Sporen (geschlechtliche Fortpflanzung), oder die Sporen entstehen auf ungeschlechtlichem Wege in oder an einer bestimmten Zelle (ungeschlechtliche Fortpflanzung). Daneben findet sich noch eine Art Dauersporenbildung (Chlamydosporen, Gemmen, Oidien). Die geschlechtlich entstehenden Sporen finden sich nur bei den Phycomyceten und bei einigen Saccharomyceten, und zwar entstehen sie entweder durch das Zusammentreten von zwei voneinander verschiedenen Zellen (Oogon und Antheridium) oder durch die Vereinigung gleichwertiger Zellen (Zygosporenbildung). Die erstere Art der Sporenbildung auf geschlechtlichem Wege, die sich auf die Oomyceten beschränkt, interessiert uns hier nicht, sondern nur die zweite Art, die bei technisch wichtigen Pilzen beobachtet worden ist.

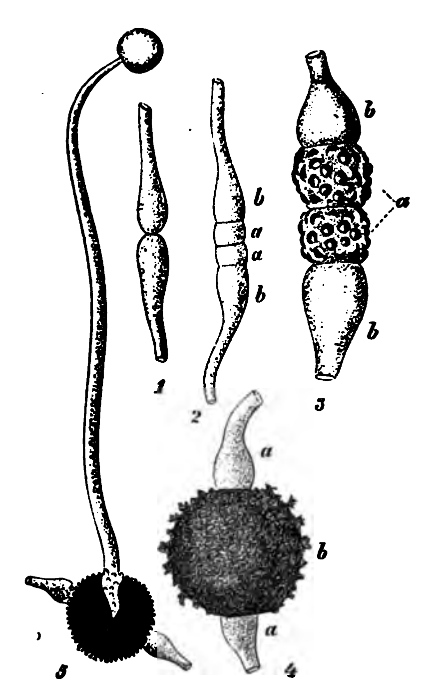


Fig. 39. Mucor mucedo. Bildung der Zygospore. *1* zwei Hyphenenden in Scheitelberührung. *2* Gliederung in Gamete *a* und Suspensor *b*. *3* Fusion der Gameten *a*; Membran verdickt sich. *4* Reife Zygospore *b* von den Suspensoren (*a*, *a*) getragen. — Vergr. von (*1*—*4*) 225. *5* Auskeimung der Zygospore zu einem Sporangienträger. — Vergr. ca. 60. Nach BREFELD.

Die ungeschlechtliche Sporenbildung läßt sich nach dem Ort der Entstehung in exogene (Konidienbildung) oder endogene (Sporangienbildung) einteilen, wozu dann als dritte Gruppe die aus Dauerzuständen von Mycelzellen hervorgehenden Sporenformen kommen würden.

Die Zygosporen entstehen durch das Verschmelzen von zwei gleichartigen Zellen. Der Verlauf ihrer Bildung ist der folgende (*Fig. 39*). Zwei Hyphen des Mycels wachsen aufeinander zu und lassen gleichzeitig ihre Scheitel zu einem mehr oder minder keulenähnlichen Gebilde anwachsen, in welchem sie reichliche Mengen von Plasma und Kerne ansammeln. Sobald die Enden der beiden Hyphen zu gegenseitiger Berührung gekommen sind (*Fig. 39, 1*), platten sie sich ab, und es tritt an der Berührungsstelle eine Verwachsung der Membranen ein. Hierauf grenzt sich jedes der beiden Keulenenden gegen die zugehörige Mycelhyphe durch Bildung einer Querwand ab. Dadurch wird also eine Endzelle, die man als Kopulationszelle oder **Gamete** (*Fig. 39, 2, a*) bezeichnet, und eine Binnenzelle gebildet, welche Tragzelle oder **Suspensor** (*Fig. 39, 2, b*) heißt, weil sie, vom zugehörigen Mycel aus betrachtet, die Gamete trägt. Darauf wird die Querwand zwischen den beiden Gameten aufgelöst, und es vollzieht sich eine Verschmelzung (Fusion) des Inhaltes der einen Gamete mit dem der anderen zu einem neuen, einheitlichen Gebilde (*Fig. 39, 3, a*), der **Zygospore** oder **Zygote.** Ihr äußerer Umriß weist anfangs allerdings noch auf die Entstehung aus zwei Zellen hin; er rundet sich aber bald ab. Die Membran verdickt sich und zeigt eine Schichtung in zwei Schalen, eine innere, welche Endosporium (Endospor), und eine äußere, welche Exosporium (Exospor) genannt wird. Letztere färbt sich bald tief dunkel und nimmt an ihrer Oberfläche eine höckerige oder warzige Struktur an. Der von der Zellhaut umschlossene Zellinhalt birgt reichliche Mengen von Speicherstoffen. Ueber die Kernvorgänge im Innern ist bereits im § 43 das Notwendigste gesagt worden.

Die Zygospore löst sich mehr oder minder bald von den Suspensoren los und führt nun ein Sonderdasein. Als Dauerzelle kann sie, wenn es nötig werden sollte, durch längere Zeit in einem Ruhezustande verharren, um dann, wenn die äußeren Umstände günstig sind, auszukeimen.

Nebst den Zygosporen, die auf die soeben geschilderte Weise durch Vereinigung zweier Gameten entstehen, gibt es nun aber im äußeren Ansehen völlig gleiche Bildungen, die nur aus einer Zelle hervorgehen. Da wir berechtigt zu sein glauben, die Zygospore als ein geschlechtliches Produkt, welches durch die Verschmelzung von zwei Zellen erzeugt wird, zu betrachten, so ist den Sporen der letzteren Art nicht mit Unrecht die Bezeichnung **Azygospore** oder **Parthenospore** gegeben worden. Ihre Bildung verläuft auf verschiedene Weise. Die eine unterscheidet sich von dem geschilderten Vorgang der Zygosporenbildung nur dadurch, daß nach eingetretener Gliederung der beiden Hyphen in Suspensor und Gamete die Querwand an der Berührungsstelle nicht aufgelöst wird und also eine Vermischung der Zellinhalte nicht eintritt, sondern jede Gamete für sich zur Spore heranreift; wir erhalten dadurch zwei Azygosporen. Die *Fig. 40* gibt in *a* davon ein Beispiel. In anderen



Fig. 40. Azygosporenbildung bei *Mucor erectus.* Nach Bainier.

Fällen hingegen vereinfacht sich der Verlauf der Entwicklung dadurch noch weiter, daß es nicht einmal zur Berührung der beiden Gameten kommt, sondern nur die eine der beiden sich selbständig zur Azygospore umbildet (*Fig. 40, b*). Selbst das Gegeneinanderwachsen der beiden Hyphen kann unterbleiben; die Azygospore bildet sich dann ganz allein am Ende eines Astes aus. Dafür ist *Mucor tenuis* ein Beispiel (*Fig. 41*). Wir können in solchen Fällen mit einer gewissen Berechtigung von einem Uebergang der Zygosporen in die später zu behandelnden Chlamydosporen sprechen.

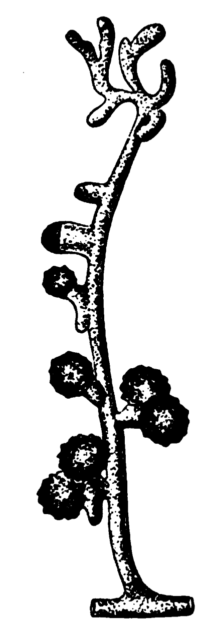


Fig. 41. *Mucor tenuis* BAINIER. Azygosporen in verschiedenen Stufen ihrer Ausbildung. — Nach BAINIER.

Es war EHRENBERG, welcher 1829 zuerst Zygosporen beobachtet hatte und zwar bei *Sporodinia grandis*, bei der sie einen Durchmesser von ungefähr einem Viertel eines Millimeters erreichen und stets ausgebildet werden. Den Verlauf ihrer Bildung und ihre Auskeimung legte aber erst DE BARY 1864 dar. Nachdem dann sieben Jahre später BREFELD noch bei anderen Pilzen die Zygosporenbildung beobachtet hatte, so vor allem bei dem gemeinen Schimmelpilz *Mucor mucedo*, begründete er mit diesen Entdeckungen zugleich die Klasse der **Zygomyceten** oder **Brückenpilze.** Er vereinigte darunter alle Phycomyceten, denen die Fähigkeit der Zygosporenbildung zukommt. Die weiteren Eigentümlichkeiten der Zygomyceten werden später im 10. Kapitel dieses Bandes und bei deren ausführlichen Behandlung (im 7. Abschnitt des IV. Bandes) geschildert werden.

Die Zygomyceten sind nun bei ihrer Fortpflanzung nicht ausschließlich auf die Bildung von Zygosporen angewiesen, im Gegenteil finden sich bei ihnen die Nebenfruchtformen, die aus Sporangien oder Konidien oder sehr selten aus beiden bestehen, ungleich häufiger, ja bei vielen ist die Zygosporenbildung überhaupt noch nicht oder nur äußerst selten (z. B. bei *Mucor mucedo*) beobachtet worden. Um so mehr erhebt sich die Frage, von welchen **Bedingungen** die **Bildung** der **Zygosporen** abhängig ist. Das Entstehen der Zygosporen hängt nicht bloß von den erblich erworbenen Eigenschaften der Zygomyceten, also von ihrer phylogenetischen Entwicklung, sondern auch von der Gesamtheit der von außen einwirkenden Kräfte ab. Wie bei allen übrigen Wesen treffen wir also auch hier das Ineinandergreifen innerer Bildungskräfte, die wir nicht kennen, und äußerer Einflüsse, über deren Betätigung nur das Experiment Auskunft geben kann. G. KLEBS (1) hat versucht, diese äußeren Bedingungen zum Eintritt der Zygosporenbildung für *Sporodinia grandis* durch eine große Reihe von Versuchen festzustellen. Zunächst ist der Feuchtigkeitsgehalt der Luft von Bedeutung. Hält er sich nahe dem Sättigungspunkt, so entstehen nur Zygosporen. Sinkt er, so kommt es daneben auch zur Bildung von Sporangien. Diese entstehen ausschließlich dann, wenn der relative Feuchtigkeitsgehalt auf etwa 65 Proz. gesunken ist und die Transspiration also kräftig einsetzen kann. Von Einfluß erscheint auch die chemische Beschaffenheit des Nährbodens, und zwar vor allem darin, daß bei Anwesenheit einer zu reichlichen Menge von stickstoffhaltigen Substanzen nur Spor-

angien und nicht auch Zygosporen entstehen. Die Bildung der letzteren setzt vielmehr die Verfügbarkeit tauglicher Kohlenhydrate voraus. Es ist dabei interessant zu beobachten, wie bestimmt der Pilz für diesen Zweck zwischen einzelnen isomeren Substanzen zu unterscheiden vermag. So entstehen Zygosporen bei Verfügbarkeit von Mannit oder Dulcit 5 ($C_6H_{14}O_6$), von Dextrose, Lävulose, Galactose ($C_6H_{12}O_6$), von Saccharose, Maltose ($C_{12}H_{22}O_{11}$), von Dextrin; hingegen entstehen nur Sporangien, wenn der Nährboden eines der Kohlenhydrate Sorbit ($C_6H_{14}O_6$), Sorbinose ($C_6H_{12}O_6$), Lactose ($C_{12}H_{22}O_{11}$), Raffinose, Isodulcit, Erythrit enthält. Bedingungen, welche die Bildung der Zygosporen erschwerten, führten 10 zur Entstehung von Azygosporen. Dagegen scheint nach Mitteilungen von E. Ch. Hansen (1) die Entstehung der Zygosporen bei *Sporodinia grandis* (und bei einer bisher unbeschriebenen *Mucor*-Art) doch nicht so streng an äußere Bedingungen angepaßt zu sein, sondern tritt auch ohne besondere Versuchsanstellung und mit großer Leichtigkeit ein. 15 Brefeld (1) stimmt den Resultaten von Klebs ebenfalls nicht zu, sondern folgert aus seinen Versuchen, daß die Zygosporenbildung bei *Sporodinia* nur auf wasserärmeren Substraten, die reich an organischen Nährstoffen und Salzen sind, vor sich geht. Dagegen erreichte er bei ganz gleicher Versuchsanstellung, wie sie bei *Sporodinia* nur Zygosporen entstehen 20 läßt, ausschließlich ungeschlechtliche Fruktifikation bei *Phycomyces*, *Mucor*-Arten, *Rhizopus*, *Thamnidium* und *Chaetocladium*, woraus hervorgeht, daß die Bedingungen für die Bildung geschlechtlicher und ungeschlechtlicher Fortpflanzungsorgane für die einzelnen Arten ganz verschieden sind. Für die meisten anderen Arten sind solche Versuche überhaupt 25 noch nicht ausgeführt, so daß wir hier noch ein recht dunkles Kapitel der Fortpflanzungsphysiologie vor uns haben. Wie schon gesagt, tritt bei vielen Zygomyceten die Zygosporenbildung überhaupt nur sehr selten ein und scheint mehr von inneren als von äußeren Bedingungen abhängig zu sein.

30

§ 48. Die endogene Sporenbildung.

Wenn im Innern einer Pilzzelle Sporen gebildet werden, so nennen wir eine solche Zelle ein **Sporangium.** Die in ihr entstehenden Sporen nennt man **Endosporen** oder **Sporangiensporen** oder kurzweg **Sporen.** 35 Man kann im Pilzreiche die schrittweise Entwicklung der Sporangienfruktifikation in schönster Weise verfolgen. Bei vielen niederen Pilzen (z. B. Chytridiaceen) ist vegetativer und fruktifikativer Thallus noch nicht geschieden; wenn die Zelle eine Zeitlang vegetiert hat, bildet ihr Inhalt sich durch Zerteilung in einzelne Partien zu Sporen um. Bei 40 anderen Oomyceten wird nicht mehr der ganze Thallus, sondern es werden nur die äußersten Spitzen zu Sporangien umgebildet. Das findet sich z. B. bei den Saprolegniaceen sehr schön. Zur vollsten Ausbildung gelangt das Sporangium aber erst bei den landbewohnenden Pilzformen und zwar speziell bei den Zygomyceten. Hier wird das Sporangium an 45 einem besonderen Organ, dem **Sporangiumstiel** oder **Träger,** über das Mycel emporgehoben, so daß es sich auch äußerlich als wohl differenziertes Gebilde abhebt. Die Entwicklung eines solchen Sporangiums verläuft wie folgt.

Von dem Mycele zweigt sich eine Hyphe ab, die sich vertikal auf- 50 richtet und zum Träger wird. Während der Träger zur normalen Höhe

heranwächst, weitet sich sein oberes Ende zu einer meist kugeligen oder flaschenförmigen Blase aus, in der sich das Plasma aus dem Stiel zusammenzieht. Dadurch wird der Träger inhaltsarm und grenzt sich gegen die endständige Blase durch eine Scheidewand (Kammerungswand) ab. Die dadurch entstehende, obere Endzelle ist nun das eigentliche Sporangium, d. h. diejenige Pilzzelle, in der die Endosporen gebildet werden. Die Querwand ist nun nicht immer eben, sondern sie wölbt sich meist mehr oder wenig konvex bis stielförmig in das Innere des Sporangiums hinein. Von ihrer Gestalt, die an ein kurzes Säulchen erinnert, wird diese eingewölbte Partie des Trägers **Columella** (Säulchen) genannt. Aus dem durch die Sporangiumwandung und die Columella eingeschlossenen und abgegrenzten Zellinhalt entstehen auf dem Wege freier Zellbildung die Sporen. Da sich im Inhalte viele Kerne vorfinden, so wird zur Sporenbildung jeder Kern gleichsam zum Sporenmittelpunkt, um den sich etwas Plasma gruppiert. Das Ganze umgibt sich dann mit einer Membran und die Endospore ist fertig. Zur Sporenbildung wird entweder der gesamte Inhalt aufgebraucht oder es bleibt ein Teil des Inhaltes zurück, der später als Quellungsmittel beim Ausstreuen der Sporen seine Rolle zu spielen hat (wie z. B. bei Mucoraceen). In den *Fig. 42* und *43* sehen wir je ein reifes Sporangium im optischen Längsschnitt. In ihrer Größe und Form schwanken die Sporangien selbst bei demselben Individuum außerordentlich; auch die Zahl und Größe der Sporen ist noch durchaus unbestimmt. Wir können bei *Mucor* durch geeignete Wahl des Nährbodens sehr kleine, wenigsporige, aber auch riesig große, vielsporige Sporangien erzeugen. Aehnliche Verhältnisse treffen wir auch bei *Thamnidium* (*Fig. 44*).

Fig. 43. Chlamydomucor racemosus Brefeld. *1* Ein verzweigter Sporangienträger. Vergr. 80. *2* Ein Sporangium bei stärkerer Vergrößerung (300) im optischen Längsschnitt — Nach Brefeld.

Fig. 42. Mucor mucedo. Sporangium im optischen Längsschnitt, *m* die Sporangienmembran, *c* die Columella, *sp* die Sporangiensporen. — Vergr. 225. Nach Brefeld.

Bei allen an das Luftleben angepaßten Phycomyceten werden in den Sporangien ausschließlich unbewegliche Sporen gebildet. Anders aber ist dies bei den Oomyceten, die in ihren allermeisten Formen auf das Leben im Wasser oder an sehr feuchten Orten eingerichtet sind. Hier werden bewegliche Sporen erzeugt, die man **Zoosporen** oder **Schwärmsporen** nennt. Sie besitzen ein oder zwei, seltener noch mehr Geißeln oder Cilien und sind nicht von einer starren Membran umgeben sondern nackt und infolgedessen auch befähigt, ihre Form innerhalb gewisser Grenzen zu ändern. **Zoosporangien** finden sich bei Chytridiaceen, Saprolegniaceen und zum Teil auch noch bei den Peronosporaceen.

Das Sporangium ist nun nicht auf seiner bisher betrachteten Stufe

stehen geblieben, sondern hat sich nach einer gewissen Richtung hin weiter fortentwickelt und damit einen solchen Formenreichtum und eine solche Mannigfaltigkeit aller seiner Merkmale erlangt, daß es staunenswert ist, wie die Natur mit 5 so geringen Mitteln eine solche Formenfülle erzeugt hat. Der Anstoß zu dieser Fortbildung des Sporangiums wird dadurch gegeben, daß die Regelmäßig- 10 keit in der Ausbildung sich entwickelt. Wir nennen ein Sporangium, das in allen seinen Teilen, nach Form, Größe, Sporen usw., regelmäßig und 15 bestimmt geworden ist, einen **Schlauch** oder **Ascus.** Solche Fruchtorgane kommen der großen Klasse der **Ascomyceten** oder **Schlauchpilze** zu. Diese 20 Regelmäßigkeit und Gesetzmäßigkeit erstreckt sich aber nicht bloß auf die äußere Form und Größe, auf die Zahl und Größe der Sporen, sondern 25 auch auf den morphologischen Ort der Entstehung des Ascus und auf die Kernvorgänge, die im Innern sich abspielen und schließlich zur Bildung 30 der Sporen führen. Ueber die Verschmelzung und Trennung der Kerne im Ascus ist im § 43 schon das Wichtigste gesagt worden. Auf die Ent- 35 stehung der Asken an bestimmten Stellen des Thallus kann hier nicht weiter eingegangen werden. Die Gestalt des Ascus ist meist schlauch- 40 förmig oder cylindrisch, daneben kommen allerdings auch kugelige oder noch anders gestaltete Asken vor. Einige Formen von Asken zeigen die 45 nebenstehenden *Figuren 45* u. *46* wie auch die *Figuren 50* und *58* auf Seite 196 und 212. Außerordentlich viele Asken besitzen Vorrichtungen zum 50 Ausstreuen (Ejakulieren) der Sporen. Während bei den Sporangien die Sporen durch Platzen oder Zerfließen der Sporangienmembran frei werden, dient bei den Asken hauptsächlich die Spitze zur

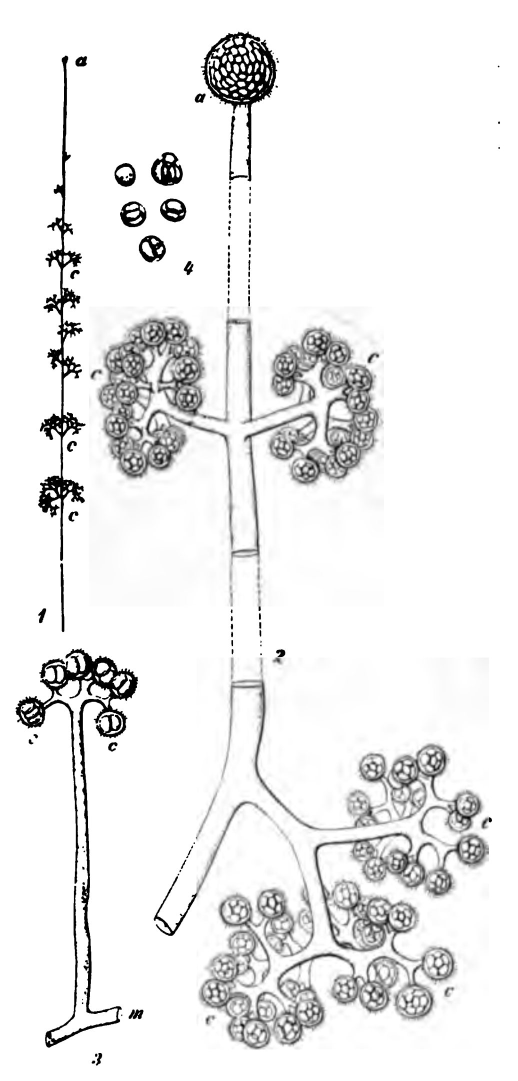


Fig. 44. Thamnidium elegans LINK.
1 Sporangienträger bei schwacher Vergrößerung (6). *2* Drei Stücke davon bei stärkerer Vergrößerung (120); *a* das scheitelständige Sporangium, *c* die Sporangiolen. *3* Verkümmerter Fruchtträger, der nur Sporangiolen aufweist. Vergr. 200. *4* Sporangiolen, die vom Träger sich losgelöst haben. Vergr. 200.
Nach BREFELD.

Sporenverbreitung. Hier ist entweder ein kleiner Membranausschnitt vorgesehen, der verschleimt oder deckelartig sich abhebt, oder es ist ein schleimartiger dicker Membranpfropfen eingefügt, der zerfließt, oder die Spitze reißt unregelmäßig ein. Außer solchen Einrichtungen können auch andere vorhanden sein, die zur Sporenbefreiung dienen. Näher kann hier nicht auf diese Verhältnisse eingegangen werden, aber man wird schon aus diesen kurzen Bemerkungen ersehen können, daß auch die Sporenentleerung für den Ascus jeder Art typisch und somit regelmäßig ist. Von besonderer Bedeutung in den Asken sind die Sporen. Sie entstehen als Produkt endogener Zellbildung, nachdem sich der Kopulationskern des Ascus bestimmt oft geteilt hat. Gewöhnlich findet eine dreimalige gleichzeitige Teilung der Kerne statt, so daß als Resultat 8 Sporen entstehen. Bei anderen Ascomyceten gehen die Teilungen weiter, so daß schließlich 16, 32, 64, 128 usw. Sporen im Schlauche liegen. Auch eine geringere Anzahl als 8 kommt vor, meist dann 4 oder 6. Die äußere Form der Ascosporen, sowie ihre Färbung ist bei den einzelnen Arten außerordentlich konstant, so daß sie das wichtigste Mittel zur Charakterisierung der Arten bildet. Im Gegensatz zu den Sporangiensporen finden wir hier sehr häufig durch Querwände geteilte Sporen; auch durch Längs- und Querwände geteilte (mauerförmige) sind nicht selten. Dabei wechselt die Form von der Kugel zum Ellipsoid oder Zylinder bis zu langen wurmförmigen Fäden. Auch in der äußeren Skulptur zeigt sich die größte Mannigfaltigkeit. (Vgl. dazu die *Figuren 45, 46, 50, 58.*)

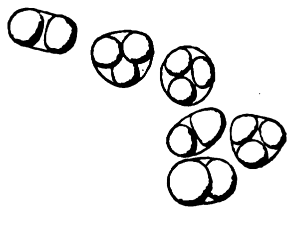


Fig. 45. Carlsberg Unterhefe Nr. 2. Einer Zucht auf Würzegelatine entnommene Zellen, in denen je 2 oder 3 Ascosporen sich gebildet haben. — Vergr. 1000. Nach Hansen.

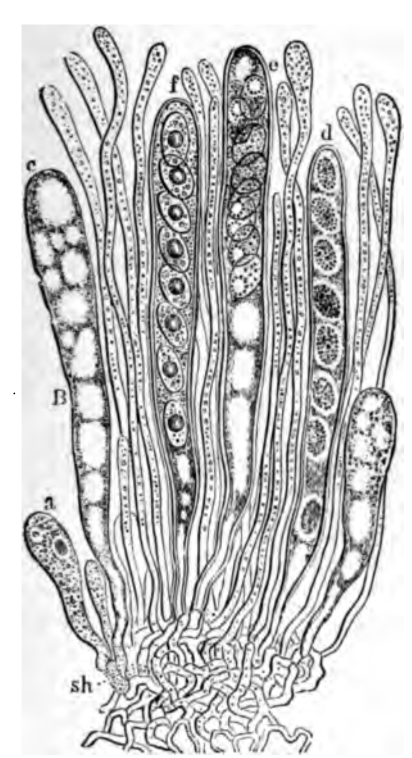


Fig. 46. Humaria convexula (Pers.) Ein Stückchen des Hymeniums. *a—f* sporenbildende Asken in verschiedenen Zuständen; zwischen ihnen die sterilen Paraphysen. — Vergr. 550. Nach Sachs.

Während bei den Zygomyceten die Sporangien meist noch einzeln stehen, tritt bei den Asken auch insofern eine höhere Differenzierung auf, als mehrere Asken zu einem bestimmten Fruchtlager zusammentreten. Die Differenzierung dieser **Schlauchlager** läßt sich in allen Phasen verfolgen. Als einen einfachen ursprünglichen oder aber als einen reduzierten Typus der Schlauchbildung können wir die Sporenbildung bei gewissen Hefen auffassen (*Fig. 45*), bei denen in den einzelnen vegetativen Zellen nach entsprechender Teilung des Kerns eine Anzahl von

Sporen entstehen. Lassen wir hier diesen, immerhin nicht ganz klar liegenden Fall beiseite, so haben wir zuerst als Grundtypus den einzelnen Schlauch, der an beliebiger Stelle des Mycels (*Fig. 50*) als seitlicher Ast entsteht. Bei reichlicher Zwischenflechtung von sterilen Fäden, 5 die meist besondere Form annehmen, erhalten wir dann die Formen der Gymnoasceen und bei noch weiterer Ausbildung der Hüllfäden in Rinden- und Capillitiumgewebe die Fruchtkörper der Plectascineen (*Aspergillus, Penicillium, Tuber* etc.). Nach der anderen Seite hin strebt der Ascus, aus bestimmten Stellen des Mycels hervorzugehen, und es sind deshalb 10 gewisse Hyphen oder Hyphenkomplexe, aus denen die Asken hervorgehen. Dazu treten dann die mannigfachen Hüllenbildungen, auf die wir hier nicht näher eingehen können. Als Haupttypen dieser Entwicklungsreihe ergeben sich die Scheibenfrucht (Apothecium) und die Kernfrucht (Perithecium), von denen jene wahrscheinlich phylogenetisch 15 von dieser abzuleiten ist. Unter **Apothecium** versteht man eine einen Kugelabschnitt darstellende Frucht, welche das Schlauchlager oben als flache, nackte Scheibe trägt, während die äußere Hülle durch ein besonderes Rindengewebe gebildet wird. Ein **Perithecium** dagegen ist eine mehr oder weniger kugelige Frucht, die außen eine besonders 20 differenzierte Wandung und im Innern einen Hohlraum besitzt, an dessen Grunde die Schläuche entstehen. Bemerkt sei noch, daß bei diesen Schlauchfrüchten fast stets sterile Fäden zwischen den Schläuchen stehen, die **Paraphysen** genannt werden und wohl hauptsächlich zum Schutz der Asken oder zur Verbreitung der Sporen dienen.

25 Die **Ursache des Aufstrebens der Fruchtträger,** und zwar ebensowohl der Sporangienträger wie der noch später zu besprechenden Konidienträger, ist schon wiederholt Gegenstand der Untersuchung gewesen. Durch welche Triebkraft erhebt sich der Fruchtträger vom Mycel und streckt sich senkrecht empor? — Seinem Zwecke gemäß zieht 30 der Fruchtträger aus dem Mycel reichliche Mengen von Substanz heran, um Sporen zu bilden und mit Speicherstoffen auszustatten. Er empfängt diese Substanz in Gestalt von Lösungen, muß also, um jene festzulegen, das Lösungsmittel entfernen. Dies geht nicht gut anders als auf dem Wege der Verdunstung. Diese nun kann in ausgiebigem Maße nur in 35 einer an Feuchtigkeit verhältnismäßig armen Umgebung eintreten. Solche Voraussetzung ist nicht innerhalb des wässerigen oder feuchten Nährbodens sondern oberhalb von ihm zu finden. Der Fruchtträger wächst also von diesem ab in die Luft hinaus. Man bezeichnet das Abwenden von der Feuchtigkeit ganz allgemein als negativen Hydrotropis- 40 mus (siehe das 17. Kapitel). Solchen hat zuerst J. Wortmann (1) im Jahre 1881 an den Sporangiumträgern von *Phycomyces nitens* festgestellt. G. Klebs (1) hat dann, nachdem zuvor auch durch L. Errera (1) Beobachtungen darüber mitgeteilt worden waren, durch seine Studien an den Konidienträgern des *Aspergillus repens* und dem Sporangienträger 45 von *Sporodinia grandis* den oben dargelegten Sachverhalt erkannt. Daß nebenbei auch noch andere Reize, also z. B. der im 17. Kapitel zu besprechende Heliotropismus, mitwirken können, ist selbstverständlich.

Ueber die **Abhängigkeit des Eintretens der Sporangienbildung** von den Ernährungsbedingungen hat G. Klebs (1) eingehende Unter- 50 suchungen an *Rhizopus stolonifer* vorgenommen und den Feuchtigkeitsgehalt der Luft über dem Nährboden, aus welchem die Sporangienträger emportreiben sollen, als das Bestimmende erkannt. J. Bachmann (1) hat dann festgestellt, daß *Mortierella van Tieghemi* nur dann Sporangien

hervorbringt, wenn sie nicht auf flüssigen sondern auf festen Nährböden angesiedelt ist, und wenn zugleich die Temperatur nicht unter 20° C sich hält. BREFELD (1) leugnet nach seinen Versuchen den Einfluß des Feuchtigkeitsgehaltes der Luft für *Sporodinia* und macht lediglich den hohen Wassergehalt des Substrates für die Bildung der Sporangien ver- 5 antwortlich. Jedenfalls geht also aus diesen verschiedenen Resultaten hervor, daß wir über die eigentlichen Gründe der Sporangienbildung noch nicht genügend im klaren sind. Vergl. auch das 13. Kapitel.

§ 49. Die exogene Sporenbildung.

Unter Konidien versteht man solche Sporen, welche exogen, d. h. 10 außerhalb der Zelle, durch Abschnürung entstehen. Während also bei den Sporangien die Sporen innerhalb einer bestimmten Zelle, dem Sporangium, sich bilden, werden die Konidien außerhalb einer meist vorher bestimmten Zelle entwickelt. Wir nennen die Zelle, welche die Konidien hervorbringt, **Träger** oder **Konidienträger**; sie hat entweder eine ein- 15 fache, fadenförmige Form oder verzweigt sich in mannigfachster Weise, worauf noch nachher einzugehen sein wird.

Die Konidien sind die recht eigentlichen Fortpflanzungszellen des Pilzreiches; denn sie zeigen die Anpassung der Pilze an das Landleben in der höchsten Form. Sie entstehen meist in ungeheuren Mengen und 20 lagern häufig in staubartigen Krusten auf dem Thallus. Diese letztere staubartige Beschaffenheit hat auch zu der Bildung des Namens Konidie Anlaß gegeben, der sich vom griechischen Worte *κονία*, Staub, ableitet. Die Konidie ist nun nicht selbständig entstanden, sondern leitet sich morphologisch vom Sporangium ab. Wir können 25 diese Entstehung noch schrittweise bei den Zygomyceten verfolgen. Bei *Thamnidium* (*Fig. 44*) finden sich große Sporangien mit vielen Sporen und kleine Sporangien mit reduzierter Sporenzahl auf demselben Träger. Durch geeignete Kultur hat man es in der Hand, an dem Orte, an welchem sonst große Sporangien entstehen, kleine Sporangien mit wenigen 30 Sporen zu erzeugen. Diese Reduktion zu kleinen Sporangien oder Sporangiolen hat sich bei *Chaetocladium* noch weiter vollzogen. Hier kommen nur Sporangiolen zur Ausbildung, die in ihrer Sporenzahl bis auf die Einzahl zurückgehen können. Während nun aber bei *Chaetocladium Fresenii* die einsporigen Sporangiolen noch eine deutliche Trennung der Sporen- 35 und Sporangiolenwandung zeigen, findet bei *Ch. Jonesii* eine Verwachsung der beiden Membranen statt. Wir erhalten also ein **Schließsporangium** oder eine **Konidie.** Dieser durch die Membranverwachsung veränderte Charakter gibt sich auch bei der Keimung kund, indem bei ersterer Art (*Ch. Fresenii*) beim Auskeimen der Spore die Sporangiolenwand abgestreift 40 wird, während bei letzterer Art (*Ch. Jonesii*) ein einfacher Keimschlauch ausgetrieben wird. Wir können also die Konidie definieren als ein einsporiges Sporangium, bei welchem Sporen- und Sporangienwand verwachsen sind, oder kürzer: die Konidie ist ein Schließsporangium. Nach dieser Erkenntnis hat die exogene Entstehung 45 der Konidien nichts Befremdliches mehr; an der Spitze des Trägers entsteht einfach ein Schließsporangium in derselben Art wie ein Sporangium an der Spitze des Trägers durch Anschwellung hervorging. Daß mit der Veränderung des Sporangiumcharakters auch eine gewisse Vereinfachung des Hervorsprossens und zugleich ein Weg gegeben ist, um die 50

Reduzierung der Sporenzahl durch vermehrte Hervorbringung von Schließsporangien auszugleichen, erscheint ohne weiteres verständlich.

Betrachten wir jetzt die **Entstehung der Konidien** näher, so erkennen wir bald, daß sich ihre Bildung auf **drei Grundtypen** zurückführen läßt. Beim Typus I verläuft die Bildung folgendermaßen (*Fig. 47*). Das obere Ende des Fruchtträgers (*a*), der sich vom Mycel abgezweigt hat, treibt (*b*) an seinem Scheitel eine Ausstülpung, welche dann (*c*) durch eine Querwand abgesetzt wird; die erste Exospore (Konidie) ist damit gebildet. Der Träger streckt sich nun um ein Stück gleich der Länge der Spore (*d*) und schnürt (*e*) eine zweite Spore ab. Dies kann sich ein zweites Mal (*f*, *g*), und öfter wiederholen. Es entsteht so (*h*) eine entweder zusammenhängende oder sich bald auflösende Kette von Konidien, von denen die oberste (*1*) die älteste, die unterste (*4*) die jüngste ist. Die Reihenfolge ihrer Entstehung ist also von der Spitze des Trägers nach seiner Basis, nämlich der Stelle seiner Abzweigung vom Mycel, zu gerichtet. Eine solche Konidienfolge nennt man **basipetal.** Die Länge des Trägers selbst ist nach Durchführung beliebig vieler Abschnürungen die gleiche wie zu Beginn. Gute Beispiele dafür sind die allbekannten Schimmelpilze *Penicillium* und *Aspergillus.*



Fig. 47. Schema der Konidienbildung nach Typus I. Erklärung im Text. — Nach ZOPF.

Im Gegensatz zu diesem eben betrachteten Typus, bei welchem der Träger abwechselnd sich streckt und dann eine Spore abschnürt, steht der nach dem in *Fig. 48* dargestellten Schema verlaufende Typus II. Hier stellt der Konidienträger *a* sein Längenwachstum ganz ein, sobald er an seinem Scheitel die Spore abgeschnürt hat (*b*). Diese letztere ist es nun (*c*), welche aus sich selbst heraus nun eine Ausstülpung hervortreibt (*d*), wodurch eine zweite Spore erzeugt wird (*e*). Ist dies erreicht, so übernimmt dann diese die Aufgabe ihrer Vorgängerin und bildet also (*f*) die dritte Spore. Diese bringt (*g*) wieder die vierte hervor und so fort. Die Reihenfolge der Konidien nach diesem zweiten Typus ist also die umgekehrte wie beim ersten, geht von der Basis nach der Spitze, ist demnach **basifugal** oder **akropetal.** Die nach diesem Typus entstehenden Sporen sind, zum Unterschied von denen des ersten, fähig und geneigt, nicht bloß an ihrem Scheitel, sondern auch seitlich eine

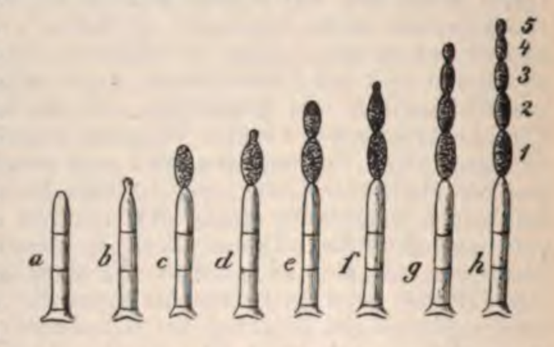


Fig. 48. Schema der Konidienbildung nach Typus II. Erklärung im Text. Nach ZOPF.

Spore hervorzutreiben, wodurch dann, wenn solches sich öfter wiederholt, ästig-verzweigte Konidienverbände zustande kommen. An dem im 12. Kapitel des IV. Bandes zu beschreibenden *Cladosporium herbarum* werden wir ein schönes Beispiel dafür kennen lernen.

Der Typus III endlich kommt ziemlich selten vor und bedarf deshalb hier keiner ausführlicheren Erörterung. Bei ihm wird vom Konidienträger selbst immer ein Stück als Konidie abgeschnürt, so daß bei immer kürzer werdendem Träger eine Kette von Konidien entsteht, bei der die oberste die älteste, die unterste die jüngste ist.

Unmittelbar nach der Entstehung ist jede Konidie einzellig und auch meist noch hyalin. Bei vielen Pilzen bleibt sie es bis zur Keimung. Bei anderen Arten aber tritt eine nachträgliche Färbung ein oder eine Kammerung durch Querwände und seltener noch durch Längswände.

Die Art der Bildung der Konidien, besonders die nach dem zweiten Typus, erinnert an den Vorgang, der im § 45 als Sprossung bezeichnet worden ist. In der Tat besteht auch zwischen **Konidienbildung** und **Sprossung**[1]) kein anderer morphologischer Unterschied außer dem, daß bei jener die Sporenbildung an einem mehr oder weniger differenzierten Konidienträger vor sich geht, diese aber unmittelbar an der vegetativen Zelle. Man kann daher im Pilzreiche alle Uebergänge von der typischen Konidienbildung bis zur Sprossung verfolgen. Man versteht von diesem Gesichtspunkt aus auch besser die Herkunft des Ausdruckes **Hefenkonidie,** der für **Sproßkonidie** gleichbedeutend gebraucht wird.

Die weitere Steigerung und Differenzierung der Konidienfruktifikation geht nun vom Konidienträger aus und zwar nach verschiedenen Richtungen hin. Einmal kann der Träger sich verzweigen und für sich allein ein höher differenziertes Gebilde werden, dann aber kann er mit anderen Trägern zusammentreten und Konidienfrüchte bilden, und endlich kann er, wie das Sporangium, sich zur Regelmäßigkeit in allen Punkten fortentwickeln.

Betrachten wir von diesen drei Möglichkeiten zuerst die **Gliederung des einzelnen Konidienträgers.** Bei außerordentlich vielen Schimmelpilzen ist der Konidienträger stets nur ein kleiner Seiten- oder Endzweig des Mycels, der sich in die Luft streckt und an seiner Spitze Konidien bildet. Als Beispiel seien die Nebenfruchtformen der Erysipheen, die *Oidium*-Arten, genannt. Aus dem einfachen zylindrischen Träger entstehen durch Verzweigung nun Formen, die in der Art ihrer Zweigbildung die allergrößte Mannigfaltigkeit zeigen. Am besten kann man die Verzweigungssysteme der Konidienträger mit den Verästelungen der Blütenstände bei den Phanerogamen vergleichen. Die Konidienstände gliedern sich demnach in monopodiale und sympodiale Systeme, in denen sich dieselben Typen wiederholen wie bei den Blütenständen. Wir finden in der ersten Abteilung die Traube, die Aehre, den Wirtel, die Dolde und das Köpfchen, in der zweiten die Dichotomie, das Dichasium, die Schraubel, den Wickel, die Sichel etc. Es würde zu weit führen, wenn auf die Merkmale dieser einzelnen Konidienstände hier eingegangen würde, da jedes Lehrbuch der allgemeinen Botanik, auch Zopf (1), die notwendigen Erläuterungen gibt. Gleichzeitig können natürlich auch mono-

[1]) Der eigentliche Unterschied zwischen beiden beruht natürlich in der Entwicklungsgeschichte. Während die Konidienbildung ein fruktifikativer Vorgang ist, der sich am letzten Ende auf die endogene Sporenbildung zurückführen läßt, bedeutet die Sprossung nur eine eigentümliche Wachstumsform des Mycels, die durch äußere Umstände hervorgerufen wird.

und sympodiale Verzweigungen kombiniert sein, so daß dann kompliziert gebaute Konidienrispen entstehen.

Die zweite Art der Differenzierung der Träger beruht auf ihrer Vereinigung zu höheren Einheiten. Wenn mehrere Konidienträger (auch 5 verzweigte) sich der Länge nach zusammenlegen, so entsteht ein (meist) aufrechtes Säulchen, das aus einem aus den Konidienträgern gebildeten Stiel und aus einem meist köpfchenartigen Teil besteht, an welchem die Sporenbildung vor sich geht. Man nennt ein solches Konidienträgerbündel ein **Coremium.** Außerordentlich häufig sind auch die **Konidien-** 10 **lager,** die dadurch zustande kommen, daß sehr viele Konidienträger lagerartig zusammentreten, wodurch ein flaches Hymenium entsteht. Endlich kommen sog. **Pykniden** vor, welche äußerlich wie Perithecien aussehen, aber innen ein die innere Wandung auskleidendes Konidienlager besitzen. Die gebildeten Konidien werden zu der Scheitelöffnung 15 der Pyknide ausgestoßen. Man kann diese drei Typen als **Konidienfruchtkörper** zusammenfassen.

Schließlich schlägt die Differenzierung der Konidienträger noch einen anderen Gang ein, indem sich wie bei der Sporangienfruktifikation ein Gebilde entwickelt, das nach jeder Richtung hin regelmäßig wird. 20 Man nennt einen solchen Konidienträger **Basidie.** Sie besteht entweder aus einer bestimmten Anzahl über- oder nebeneinander gelagerter Zellen (**Protobasidie**) oder aus einer einzigen etwas keulig aufgeschwollenen Zelle (**Autobasidie**). Jede Basidie (oder Basidienzelle) trägt eine ganz bestimmte Anzahl Sporen; so besitzt die ungeteilte Basidie meist vier 25 (2—6) Sporen, die geteilte an jeder Zelle eine Spore. Die Sporen sitzen fast stets mit feinen Stielchen (**Sterigmen**) der Basidie an. Die Größe, Farbe und Form der Sporen ist ganz gleichmäßig bei derselben Art. Ebenso sind die Kernvorgänge (§ 43), die zur Bildung der Sporen führen, von absoluter Gleichmäßigkeit. Nach diesen regelmäßig gewordenen 30 Konidienträgern hat man die große Klasse der Basidiomyceten benannt, die als Hauptfruchtformen Basidien besitzen.

Es ist hier der Ort, noch einer eigentümlichen Erscheinung Erwähnung zu tun, die man mit dem Namen **innere Konidienbildung** bezeichnet hat. Bereits im § 44 auf S. 170 wurde darauf hingewiesen, 35 daß ausnahmsweise das Scheitelwachstum wieder aufgenommen werden kann, wenn lebende Zellen von den Querwänden aus in abgestorbene hineinwachsen. In solchen Fällen entstehen nicht immer bloß Fäden, sondern bisweilen auch trägerartige kurze Fortsätze, die an ihrer Spitze Konidien abschnüren. Wenn bereits mehrere Konidien entstanden sind, 40 so erinnert eine solche abgestorbene Zelle mit den Sporen darin an ein Sporangium, obwohl natürlich die Sporen in ganz regulärer Weise exogen entstanden sind (*Fig. 29*). Die Bezeichnung „innere Konidienbildung“ wird durch das Gesagte verständlich. Man trifft diesen Vorgang namentlich bei alten Kulturen von Schimmelpilzen als pathologische Erscheinung 45 ziemlich häufig an. (Vgl. z. B. bei *Dematium* im 12. Kapitel des 4. Bandes.)

Einen ähnlichen (aber normalen) Verlauf nimmt die Konidienbildung bei den sog. **Büchsenkonidien.** Bei vielen Nebenfruchtformen, z. B. *Chalara*, kommen die Konidien am Ende des Fadens aus einer oben offenen Zelle zum Vorschein. Man kann sich die Entstehung der 50 Konidienbüchsen etwa so vorstellen, daß die Endzelle eines Fadens abstirbt und nun die Querwand der darunter liegenden Zelle zum konidienerzeugenden Fadenscheitel sich umbildet. Man scheint es hier mit einer

Einricatung zum Schutze der Konidien zu tun zu haben; die Entwicklungsgeschichte dieser Bildungen ist noch wenig bekannt.

Die Konidien kommen überall im Pilzreiche vor. Wir treffen sie bereits bei den landbewohnenden Formen der Oomyceten, den Peronosporeen. Ihre höchste Ausbildung erreichen sie bei den Ascomyceten. 5 Wir hatten gesehen, daß die Ascomyceten sich des Besitzes von regelmäßig gewordenen Sporangien, Asken genannt, erfreuen. Neben diesem (als Hauptfruchtform unterschiedenen) Gebilde kommen aber fast überall noch Nebenfruchtformen vor, welche ausschließlich von Konidien, niemals von Sporangien gebildet werden. Wir finden unter diesen Nebenfrucht- 10 formen alle Arten von verzweigten Konidienträgern, Coremien, Konidienlagern und Pykniden, und zwar häufig bei derselben Art nicht bloß eine sondern mehrere in den verschiedensten Kombinationen. Viel seltener treffen wir die Konidienfruchtkörper bei den Basidiomyceten; meist werden hier nur Konidienträger erzeugt. So seien als Beispiel für das 15 Vorkommen von Pykniden die Rostpilze genannt, für die Konidienträger der bekannte Holzzerstörer *Polyporus annosus*. Man nennt diese Erscheinung Pleomorphismus.

Wie bei den Sporangien und Zygosporen, so war man auch hier bemüht, durch geeignete Versuchsanstellung ausschließlich Konidien- 20 bildung hervorzubringen. Diese Versuche sind zwar häufig angestellt worden, haben aber bisher noch zu keinem recht greifbaren Resultat geführt. So wirkt nach KLEBS (1) bei *Eurotium* (*Aspergillus*) *repens* wahrscheinlich die Transpiration der Hyphe als treibende Kraft, so daß also Neigung zur Abgliederung von Sporen dann eintritt, wenn das Mycel 25 dem Nährboden das Wasser mit einer gewissen Kraft entziehen muß. *Aspergillus niger* bringt zufolge C. TANRET (1) keine Konidien hervor, wenn er bei 30—40° C in einer Raulin'schen Nährlösung sich entwickeln muß, die 0,5 g oder mehr Ammoniumnitrat pro 100 ccm oder größere Mengen des Sulfates oder des Chlorides dieser Base enthält, während 30 Ammoniumphosphat selbst in der Gabe von 2 g den besagten Vorgang begünstigt. Aus dem erstgenannten Salz wird freie Säure (bis zu 0,4 g pro 100 ccm) abgespalten. Bei 20—22° C hingegen vermag selbst 1 g Ammoniumnitrat die Fruchtbildung bloß zu verlangsamen, nicht zu verhindern. W. SCHOSTAKOWITSCH (1) hat gleichfalls Versuche in dieser 35 Richtung insbesondere an *Dematium pullulans* angestellt, aus denen hervorgeht, daß bei Reihenkultur bei 30° ausschließlich Hefenkonidien gebildet werden, eine Erscheinung, die strenggenommen nicht hierher gehört. Nähere Angaben darüber im 13. und 16. Kapitel.

§ 50. Oidien, Gemmen, Chlamydosporen. 40

Es kommt nun sehr häufig vor, daß ein Mycel zur Bildung sporenartiger Zellen schreitet, indem es sich durch Teilungswände in eine Anzahl von mehr oder weniger eiförmigen oder kugeligen Zellen gliedert, die nach ihrer Trennung Sporencharakter annehmen und durch Auskeimung neue Individuen bilden. Solchen Zerfall in einzelne Stücke 45 findet man nicht bloß bei den einzelligen Phycomyceten (*Mucor* etc.) sondern auch bei den Mycomyceten. Man bezeichnet den erwähnten Vorgang als **Oidienbildung** und das einzelne sporenartige Teilstück als **Oidie.** Man verallgemeinert mit dieser Benennung den Vorgang, wie er zuerst an dem als *Oidium lactis* bekannten Pilze beobachtet wurde. 50

Häufig wird das ganze Mycel bei der Oidienbildung aufgebraucht und völlig in zusammenhängende Ketten von Oidien aufgelöst (*Fig. 49* und *Fig. 50, 2*). Den Charakter von Dauerzellen tragen die Oidien noch nicht, sondern sie können unter Umständen sofort zu einem neuen Individuum auswachsen.

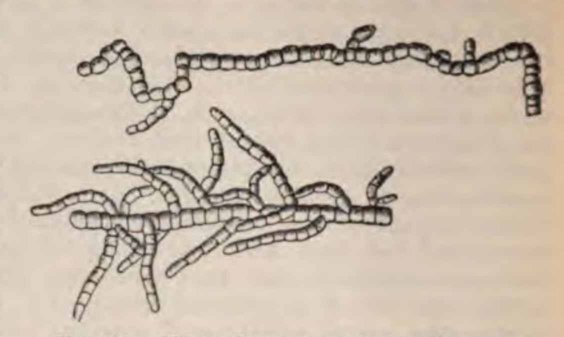


Fig. 49. *Chlamydomucor racemosus* Brefeld. Mycelstücke, welche in Ketten von Oidien sich umgewandelt haben. — Vergr. 120. Nach Brefeld.

Den Gegensatz zu diesen Oidien mit mehr vegetativem Charakter bilden die **Chlamydosporen** mit ihrer ausgesprochenen fruktifikativen Eigenschaft und ihrer Anpassung auf eine Ruheperiode. Die Chlamydosporen entstehen ebenfalls am Mycel am Ende und werden dann als **Stielgemme** bezeichnet (*Fig. 50, 3*) oder im Verlaufe eines Fadens (interkalar) durch Abgrenzung mittels Querwand (*Fig. 51*). Meist verdickt sich die Membran sehr bedeutend und nimmt eine dunklere Färbung oder äußere Skulptur an. Diese Sporen müssen eine Ruhepause durchmachen, ehe sie auszukeimen vermögen. Das Hauptmerkmal der Chlamydospore ist aber ihre Auskeimung. Sie treibt keinen Keimschlauch, sondern unmittelbar einen Fruchtträger. Beispiele dafür sind die Chlamydosporen von *Protomyces* (siehe *Fig. 57* auf S. 209) und *Chlamydomucor* (*Fig. 51*) und die Teleutosporen der Uredineen. Diese typische Ausbildung der Chlamydospore findet sich aber nicht überall in gleich deutlicher Weise. Bald keimt sie auch vegetativ aus, bald braucht sie keine längere Ruhepause vor der Keimung. Am besten wird noch die dicke Membran und die dunklere Färbung bewahrt. Ueberblicken wir die gesamten Erscheinungen, so sehen wir einen allmählichen Uebergang von der Chlamydo-

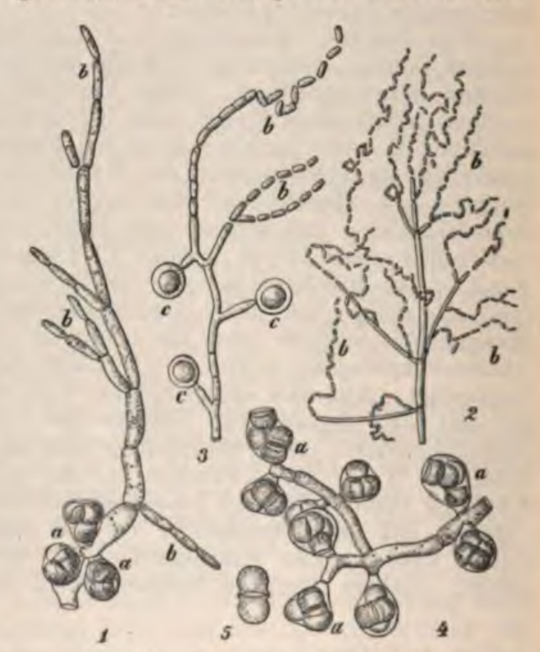


Fig. 50. *Endomyces decipiens* Reess. *1* Ein Mycelast, welcher unten drei Asken (*a*) mit je vier hutförmigen Ascosporen hervorgebracht hat, während dessen obere Zweige in Oidien (*b*) zerfallen. Vergr. 320. *2* Ein Stück Mycel, das ganz in der Oidienbildung aufgeht. Vergr. 120. *3* Ein Mycelast, welcher oben Oidien (*b*) abgliedert, unten jedoch drei Chlamydosporen (*c*) angelegt hat. Vergr. 240. *4* Ein Mycelast mit Asken (*a*) allein. Vergr. 320. *5* Ein Sporenpaar aus einem solchen Ascus. Vergr. 350. — Nach Brefeld.

spore zur Oidie. Der Ruhezustand des Fruchtträgers, wie er in der typischen Chlamydospore vorliegt, schwächt sich immer mehr ab, bis schließlich die Oidie als eine vegetative Sporenform entsteht. Viel häufiger als die Endglieder dieser Reihe finden sich die Zwischenglieder, die schon seit langer Zeit wegen ihres mehr oder weniger ausgeprägten Ruhezustandes als **Gemme** (*gemma* = Knospe) bezeichnet wurden. Eigentlich gehen also die drei Begriffe Oidie, Gemme und Chlamydospore ineinander über. Man kann sie aber trotzdem leicht auseinander halten, wenn man sich folgendes deutlich macht. Die Benennung Chlamydospore reserviert man am besten für diejenigen Dauersporen, die entweder unmittelbar fruktifikativ auskeimen oder wenigstens typisch auf längere Ruhezeit bei gleichzeitiger Ausbildung einer dicken Membran angepaßt sind. Unter Gemmen würde man dann die häufig vorkommenden Dauerzellen am Mycel verstehen, die oft oidienartig durch Zerfall der Fäden gebildet werden und sich durch eine etwas dickere Membran und dunklere Färbung vom übrigen Mycel absetzen. Die Oidien fielen endlich unter die eingangs gegebene Definition. Man könnte also, wie man sieht, den Ausdruck Gemme sehr gut fallen lassen; jedoch hat er sich in der Praxis eingebürgert und hat auch seine Berechtigung, sobald man sich seinen Unterschied gegenüber den eigentlichen Chlamydosporen stets deutlich vor Augen hält.

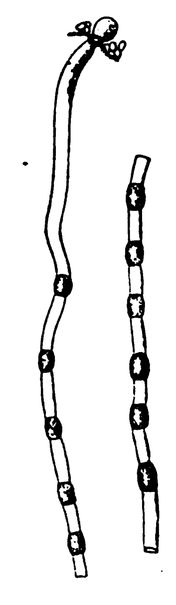


Fig. 51. *Chlamydomucor racemosus* BREFELD. Rechts ein Stück einer Mycelhyphe mit sechs Chlamydosporen. Links ein Sporangiumträger mit fünf Chlamydosporen; am Scheitel die Columella, einige Sporangiumsporen und die Reste der durch Präparation zum größten Teile entfernten Sporangiummembran. — Vergr. 80. Nach BREFELD.

Bei allen diesen Bildungen haben wir es mit sporenartigen Dauerzuständen der Fruchtkörper (Sporangium, Konidienträger) oder der Mycelzellen zu tun. Wenn auch bei den eigentlichen Oidien dieser Dauercharakter nicht besonders deutlich in die Erscheinung tritt, so zeigt er sich bei den beiden anderen Typen in ausgesprochenster Weise. Der Inhalt der Spore wird mit Speicherstoffen erfüllt, die aus den benachbarten Mycelteilen herangeschafft werden. Wir finden deshalb häufig große glänzende Oeltropfen, welche den gewöhnlichen Reservestoff bei Pilzen bilden. Ferner verdickt sich die Membran in mehr oder weniger ausgesprochener Weise und bekommt sogar häufig noch äußere Verdickungen. Durch diese Einrichtungen wird die Spore befähigt, eine längere Ruhepause, die meist von Wassermangel begleitet ist, durchzumachen und die ungünstige Zeit zu überdauern.

Obwohl die Chlamydosporen schon 1855 von THEOD. CASPARY (1) entdeckt und als Sporenform erkannt wurden (Arthrosporen von ihm genannt), so erfaßte viel später erst BREFELD die eigentliche morphologische Bedeutung dieser Dauersporen bei seinen Untersuchungen über Zygomyceten.

Ueber die willkürliche Hervorrufung und Unterdrückung der Gemmenbildung hat J. BACHMANN (1) einige Versuche an *Mortierella van Tieghemi* angestellt und gefunden, daß in Kulturen auf festen Nährböden die Erhöhung der Konzentration die Sporangienbildung hemmt und endlich

unterdrückt, und daß in gleichem Maße die Reichlichkeit der Gemmenbildung gesteigert wird.

Man könnte an dieser Stelle noch einiger Mißbildungen Erwähnung tun, die in ihrer äußeren Form den Dauersporen entfernt ähneln, aber weder nach ihrer Entstehung noch nach ihrem späteren Schicksal mit ihnen etwas zu tun haben. Dies sind Anschwellungen, die bei ungünstigen Lebensbedingungen auftreten können, aber durch ihre Unregelmäßigkeit das Zeichen des Pathologischen an sich tragen. So beobachtete Lopriore (1) Anschwellungen an den Keimschläuchen von *Mucor mucedo*, wenn die in tauglicher Nährlösung befindlichen Sporen einer Atmosphäre von 60 Proz. Sauerstoff und 40 Proz. Kohlensäure ausgesetzt wurden. Eschenhagen (1) beobachtete ähnliche Mißbildungen an Zellen, die in reichhaltiger Nährlösung (z. B. 60 proz. Zuckerlösung) herangewachsen waren. Auch in gemischten Kulturen kommen sie nach Reinhardt (1) als ein Ergebnis der schädigenden Einwirkung der Stoffwechselprodukte verschiedenartiger Zellen aufeinander zustande.

Nachdem wir jetzt den Begriff der Fortpflanzungszellen bei den Pilzen genauer kennen gelernt haben, können wir auch das **Vorkommen der einzelnen Fortpflanzungsarten** im Entwicklungsgang einer Pilzart der Betrachtung unterziehen. Wenn die Entwicklung des vegetativen Teiles des Thallus eines Pilzes mit der Ausbildung nur einer einzigen Sporenart (Konidien, Sporangien, Asken, Basidien etc.) abschließt, so nennen wir einen solchen Pilz **monomorph.** Wir bezeichnen ihn aber als **pleomorph,** wenn sich mehrere der soeben betrachteten Sporenbildungstypen bei ihm vorfinden. Das letztere ist nun bei den allermeisten Arten der Fall. Von den einem Pilze eigentümlichen Fruchtformen unterscheidet man eine **Hauptfruchtform** und die **Nebenfruchtformen.** Unter der ersteren versteht man z. B. die geschlechtlich entstehenden Früchte (Zygosporen) und die regulär gewordenen Typen der Sporangien und Konidien (Asken und Basidien). Unter Nebenfruchtformen versteht man dann die verschiedenen Arten von Konidienträgern, Konidienfruchtkörper, Dauersporen, Hefenkonidien und Sporangien. Obwohl ein Pilz (z. B. viele Ascomyceten) eine ganze Anzahl von Nebenfruchtformen besitzen kann, so sind doch gewisse Einschränkungen zu machen. So kommen Dauersporen und Hefenkonidien überall bei den höheren Pilzen vor, wenn auch nicht im Entwicklungsgang jeder einzelnen Art. Sporangien dagegen fehlen als Nebenfruchtformen durchaus bei den höheren Pilzen; sie sind ganz allein auf die Phycomyceten beschränkt. Am weitesten verbreitet sind die Konidien in ihren verschiedensten Differenzierungen. Bei den Ascomyceten gibt es viele Formen, die neben freien Konidienträgern und Coremien noch mehrere Arten von Konidienlagern und Pykniden besitzen. Bekannte Beispiele für pleomorphe Formen sind *Penicillium*, *Claviceps*, *Endomyces* u. a. Bei den Basidiomyceten hat sich die Pleomorphie nicht in so weitgehendem Maße entwickelt; indessen trifft man aber doch bei einigen Gruppen typische Beispiele für die Vielgestaltigkeit der Fruchtformen. So bieten z. B. die Uredineen den einzig dastehenden Fall von dreierlei Dauersporen, einer Pyknide und endlich als Hauptfruchtform einer Basidie. Umgekehrt kennen wir eine große Anzahl von Pilzen, bei denen noch niemals höhere Fruchtformen aufgefunden wurden. Sie besitzen die mannigfachsten Konidienträger und Konidienfruchtkörper und werden gewöhnlich als **Fungi imperfecti** zusammengefaßt. Da von einigen die Zugehörigkeit zu Ascomyceten auf dem Wege der Kultur festgestellt

worden ist, so wird man nicht fehl gehen, wenn man alle oder wenigstens die meisten als Nebenfruchtformen zu den Ascomyceten stellt.

§ 51. Die Keimung und Lebensfähigkeit der Sporen.

Sobald die Spore die Fähigkeit erlangt hat, sich zu einem neuen Individuum derselben Art, von der sie stammt, zu entwickeln, nennt 5 man sie **reif.** Die erste Stufe dieser Entwicklung heißt die **Keimung.** Trotz kleiner Verschiedenheiten verläuft die Auskeimung bei fast allen Sporen außerordentlich gleichmäßig. Hauptsächlich kommen zwei Typen in Betracht. Wenn nämlich die Spore nur eine einfache dünne Haut besitzt, so wird die Membran fingerförmig vorgewölbt und die Hervor- 10 wölbung wird zum Keimschlauch. Besitzt dagegen die Spore eine doppelte Wandung (Exospor und Endospor), so wird die äußere Membran entweder gesprengt und das Endospor wächst wie eine einwandige Spore aus, oder das Endospor stülpt sich zu bereits vorgezeichneten Löchern (Keimporen) des Exospors hervor. Diese Möglichkeiten 15 können bei den verschiedensten Sporenarten vorkommen und sollen uns hier nicht weiter beschäftigen.

Bei den endogen und bei den exogen entstandenen Sporen verläuft die Keimung ziemlich einfach und schließt sich im wesentlichen an die Schilderung an, die im § 44 gegeben worden ist. Abweichungen 20 kommen gelegentlich vor, so bei *Saccharomyces Ludwigii,* wo vor der Bildung der neuen Zellen eigentümliche Fusionen an den auskeimenden Sporen erfolgen, worüber im 1. Kapitel des IV. Bandes Näheres gesagt werden wird. Bei den Konidien ist für die Keimung die Abtrennung von der Mutterpflanze durchaus nicht die Voraussetzung, vielmehr erfolgt 25 häufig die Auskeimung noch auf dem Konidienträger. Dagegen herrscht bei den endogenen Sporen im allgemeinen die Regel, daß die äußere Hülle erst gesprengt sein muß und die Sporen frei sein müssen, ehe die Keimung eintritt. Auf die Einrichtungen zur Sprengung der Sporangien- und Askenwandung ist bereits im § 48 hingewiesen worden. Indessen 30 kommt bisweilen auch Auskeimung im Ascus selbst vor, indem die Sporen hefenartig zu sprossen beginnen. Solche Fälle sind bei den Exoasceen, bei *Nectria* u. a. recht häufig. Das Auswachsen des Mycels erfordert natürlich besondere Vorbedingungen, wenn es normal erfolgen soll. Nach besonderen Versuchen von P. Lesage (1) steht es außer 35 Zweifel, daß das Auswachsen einer auf festem Nährsubstrat auskeimenden Spore zum Mycel um so rascher und üppiger erfolgt, je höher die Tension der darüber stehenden Luft an Wasserdampf ist.

Die Keimung der Zygosporen setzt damit ein, daß das Exospor platzt und das Endospor durch den Druck des schwellenden Zellinhaltes 40 an einer oder an mehreren Stellen je eine Hervorwölbung erleidet. Diese wächst, wenn die Zygospore innerhalb einer Flüssigkeit gehalten wird, zu einem Mycel (vegetativ) aus; dagegen treibt sie einen Fruchtträger (fruktifikativ), wenn die Zygospore frei der Luft ausgesetzt wird. In *Fig. 52* sehen wir beide Typen der Auskeimung bei 45 derselben Art. Auch *Teilfigur 5* in *Fig. 39* auf S. 183 zeigt die fruktifikative Auskeimung der Zygospore.

Die Keimung der Oidien ist eine ausschließlich vegetative. Die *Fig. 53* zeigt diesen Vorgang. Indessen können bei gewissen Mucorineen bei der Auskeimung auch sofort Fruchtkörper gebildet werden, was 50

aber nicht auf die Fähigkeit der Oidien hierzu zurückzuführen ist, sondern lediglich auf äußere Bedingungen, welche dem auswachsenden Mycel die Fruchtträgerbildung vorschreiben. Die Chlamydosporen

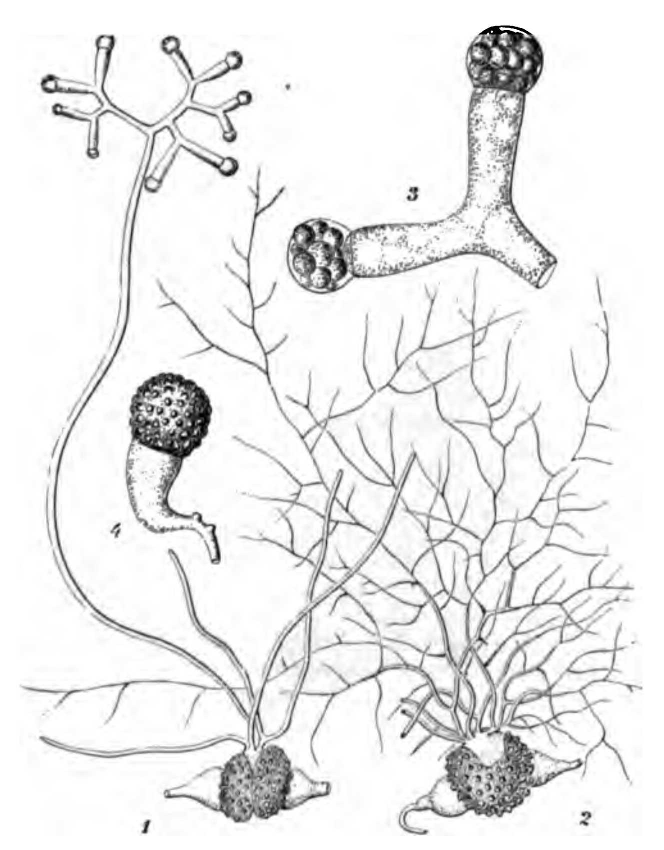


Fig. 52. Sporodinia aspergillus SCHRANK.
1 Fruktifikativ keimende Zygospore. — Vergr. 40. Nach BREFELD. *2* Vegetativ keimende Zygospore. — Desgl. *3* Zwei Sporangien dieses Fruchtkörpers in reifem Zustande. — Vergr. 150. Nach DE BARY. *4* Azygospore. — Vergr. 90. Nach v. TAVEL.

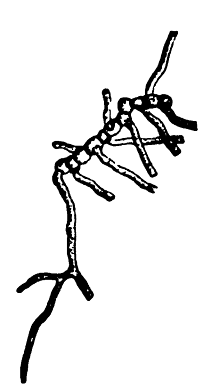


Fig. 53. Chlamydomucor racemosus BREFELD. Vegetative Keimung eines Verbandes von elf Oidien. Vergr. 80. Nach BREFELD.

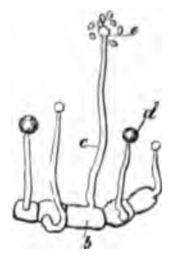


Fig. 54. Chlamydomucor racemosus BREFELD. Kette von fünf Chlamydosporen, welche je einen Sporangiumträger hervorgetrieben haben. Das Sporangium von *d* ist noch unreif. Das von *c* ist schon zerstört; nur die Columella *c* und acht Sporangiumsporen sind noch vorhanden. — Vergr. 120. Nach BREFELD.

keimen in ihrer typischen Form fruktifikativ aus; indessen treiben sie in sehr vielen Fällen nur vegetative Keimschläuche. Die fruktifikative Auskeimung der Chlamydosporen ist besonders typisch bei *Chlamydomucor racemosus*, was *Fig. 54* veranschaulicht. (Man vgl. auch die in *Fig. 57* auf S. 209 abgebildete Keimung der Chlamydosporen von Protomyces.) Diese Dauerzellen können aber auch vegetativ auskeimen, wie BAIL schon 1857 nachwies. Er hat dabei auch die Beobachtung gemacht, daß untergetauchte Chlamydosporen dieses Pilzes nicht zu einem vegetativen Mycel sondern zu einem Sproßmycel auswachsen.

Im allgemeinen ist die **Lebensfähigkeit** (Tenacität) der Sporen und damit ihre Ausdauer unter widrigen Verhältnissen größer als bei

den zugehörigen Mycelien. Zusammenstellungen der darüber vorliegenden Literatur finden sich in den Handbüchern von De Bary, Zopf und in der Pflanzenphysiologie von Pfeffer. Es können hier nur einige Beispiele gegeben werden, welche mit den Zwecken der technischen Mykologie im Einklang stehen.

Was die Ausdauer gegenüber Trockenheit, also der Austrocknung, anbelangt, so steht die von E. Ch. Hansen (1) entdeckte und untersuchte *Anixiopsis stercoraria* obenan. Die Ascosporen dieses Verwandten von *Penicillium* erwiesen sich nach einer durch 21 Jahre sich hinziehenden Aufbewahrung im trockenen Zustande noch als keimfähig. Durch denselben Forscher wurden die Konidien des *Aspergillus glaucus* nach einer Ruhezeit von 16 Jahren, diejenigen des *Aspergillus flavescens* nach 8 Jahren (aber nicht länger) als lebenskräftig befunden, ebenso durch Eidam (1) diejenigen des *Aspergillus fumigatus* nach 10 Jahren, durch Brefeld diejenigen des *Aspergillus flavus* nach 6 Jahren, durch C. Wehmer (1) diejenigen des *Aspergillus oryzae* nach mehr als 4 Jahren, des *Aspergillus niger* nach ungefähr 3 Jahren, des *Aspergillus Wentii* nach mehr als einem Jahre. Selbstverständlich treffen diese Befunde nicht für jede einzelne Spore der genannten Arten zu. Die weniger kräftigen sterben schon zu einem viel früheren als dem angegebenen Zeitpunkt ab. Geringe Widerstandsfähigkeit gegenüber trockener Aufbewahrung zeigen die Sporangiensporen der Zygomyceten. So sterben die Sporen von *Mucor locusticida* nach etwa 4—5 Monaten ab, von *Phycomyces* in nicht viel längerer Zeit usw. Die Saccharomyceten besitzen widerstandsfähige Sporen, über die im IV. Band noch Näheres mitgeteilt werden soll. Alle diejenigen Sporen, welche von vornherein als Dauersporen angelegt werden, so die dickwandigen Chlamydosporen, Zygosporen etc., vertragen längere Trockenheit meist recht gut. Ihr Inhalt trocknet beim Liegen langsam ein, so daß die Membran faltig wird. Erst das Eindringen von Wasser bringt wieder Quellung und Herstellung des turgescenten Zustandes hervor.

Der Widerstand gegen Hitze ist verschieden groß, je nachdem die Pilzsporen in trockenem Zustande oder bei Anwesenheit von Feuchtigkeit ihrer Einwirkung ausgesetzt werden. Im zweiten Falle tritt das Absterben viel leichter und früher ein, wie wir dies früher schon bei den Schizomyceten festzustellen Gelegenheit hatten. So hat schon Pasteur gezeigt, daß die Konidien von *Penicillium glaucum* in einer Flüssigkeit verteilt bei 100° C absterben, daß sie hingegen bei Ausschluß von Feuchtigkeit selbst 120° C durch einige Zeit widerstehen, jedoch nicht auch Temperaturen von 127—130° C. Weitere Angaben darüber finden sich an mehreren anderen Stellen dieses Handbuches.

Ueber die Ursache der hohen Widerstandsfähigkeit der Eumycetensporen gegen trockene Hitze sind schon mancherlei Meinungen geäußert worden. E. Cramer (1) sucht sie, auf Grund der Ergebnisse der von ihm angestellten chemischen Analysen, in der hohen Konzentration des Zellinhaltes. Die darin noch vorhandene Wassermenge sei nicht mehr ausreichend, um das Koagulieren des Eiweißes zu ermöglichen. Er fand z. B. in den Sporen ca. 61 Proz. und in dem zugehörigen Mycele nur ca. 12 Proz. Trockenrückstand. Dessen Aschengehalt wurde aber im ersteren Falle niedriger (3,1 Proz.) als in letzterem (11,3 Proz.) gefunden. Angesichts der großen Abhängigkeit der chemischen Zusammensetzung der Mikroorganismen von der Beschaffenheit des Nährbodens über-

haupt, ist das Ziehen allgemeiner Schlüsse aus solchen Analysenzahlen eine heikle Sache.

In betreff des Widerstandes gegen niedrige Temperaturen gilt im wesentlichen das bei den Schizomyceten Gesagte auch für die Eumycetensporen. Die Mycelien dagegen, insbesondere wenn sie saftreich sind, sterben in manchen Fällen oft schon wenig unter 0° ab, so dasjenige des Phycomyces nitens zufolge H. Molisch (1). Andere wieder, so z. B. die Hefen im gepreßten (also wasserarmen) Zustande, ertragen hohe Kältegrade. Vgl. die Angaben im 16. Kapitel.

In betreff der Widerstandsfähigkeit der Eumycetensporen gegen Gifte (vgl. das 19. und 21. Kapitel) sind in den letzten Jahren namentlich viele Untersuchungen an Brand- und Rostpilzsporen vorgenommen worden. Doch gehören die dabei erlangten Resultate nicht in eine Behandlung der technischen Mykologie sondern in eine Phytopathologie. Im weiteren sei noch auf die Zusammenstellungen bei E. Loew (1), Jönsson (1), Stevens (1) und Ferguson (1) hingewiesen.

Literatur

zum Kapitel Die Fruktifikationsorgane der Eumyceten.

*__Bachmann,__ J., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1899, Bd. 34, S. 279. *__Bainier,__ (1) Ann. sc. nat. 6. sér. XV, XIX. *__Brefeld,__ (1) Jahresber. Schles. Ges. f. vaterl. Kult., Breslau 1900. *__Caspary,__ Th., (1) Flora, 1855, Bd. 38, S. 483. *__Cramer,__ E., (1) Arch. f. Hyg., 1891, Bd. 13, S. 71; 1894, Bd. 20, S. 197. *__Eidam,__ (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1883, Bd. 3, S. 377. *__Errera,__ L., (1) Ann. of Bot., 1892, Bd. 6, Nr. 24. *__Eschenhagen,__ Fr., (1) Ueber den Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentration etc., Diss. Leipzig, 1889. *__Ferguson,__ (1) U. S. Dep. of Agric. Bur. of Plant Industry, 1902, Bull. n. 16. *__Hansen,__ E. Chr., (1) Bot. Ztg., 1897, 1. Abt., Bd. 55, S. 111. *__Jönsson,__ (1) Botan. Ctrlbl., 1889, Bd. 37, S. 201. *__Klebs,__ G., (1) Die Bedingungen d. Fortpflanzung bei einigen Algen u. Pilzen, Jena 1896. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 32, S. 1. *__Lesage,__ P., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1894, Bd. 118, S. 607. *__Loew,__ E., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1870, Bd. 7, S. 472. *__Lopriore,__ G., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. 28, S. 531. *__Marschall,__ (1) Arch. f. Hyg., 1897, Bd. 28, S. 16. *__Molisch,__ H., (1) Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen, Jena 1897. *__Reinhardt,__ M. O., (1) Jahrb. wiss. Bot. 1892, Bd. 23, S. 479. *__Schostakowitsch,__ W., (1) Flora, 1895, Bd. 81, S. 362. *__Stevens,__ F. L., Botan. Gaz., 1898, Bd. 26, S. 377. __Tanret,__ C., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 123, S. 948; Bull. Soc. Chim. Paris, 1897, 3. sér., Bd. 17, S. 914. *__Wehmer,__ C., (1) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1897, Bd. 3, S. 104. *__Wortmann,__ J., (1) Bot. Ztg., 1881, Bd. 39, S. 368. *__Zopf,__ W., (1) Die Pilze, 1890.

10. Kapitel.

Die Systematik der Eumyceten.

§ 52. Oomycetes.

Der augenfälligste Unterschied, den die Eumyceten gegenüber allen übrigen Pflanzen [1]) zeigen, besteht in dem Mangel eines assimilierenden Apparates, des Chlorophylls. Wir stellen sie deshalb auch als chlorophyllfreie oder farblose Reihe des Pflanzenreiches der chlorophyllführenden oder grünen entgegen.

Die grüne Reihe des Pflanzenreiches beginnt (s. S. 26) mit den

[1]) Die Schizomyceten und Myxomyceten natürlich ausgeschlossen, die aber hier nicht berührt werden sollen.

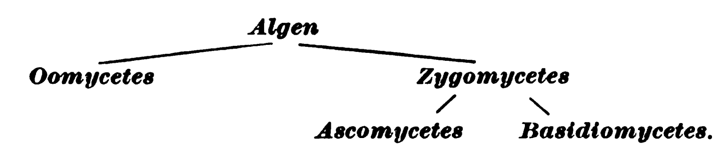
Algen, vorwiegend Wasserformen, setzt sich über Moose und Farne, die man als Archegoniaten zusammenfaßt, zu den höchst stehenden Gewächsen, den Phanerogamen oder Siphonogamen, fort. In dieser langen Entwicklungsreihe, die mit einzelligen Formen beginnt, herrscht anfangs bei der Bildung der Fortpflanzungszellen die Ungeschlechtlichkeit vor. Schritt für Schritt können wir dann bei den Algen verfolgen, wie die sich paarenden Schwärmsporen, die anfangs gleich sind, später ungleich werden, wie die Verschiedenheit, die sich in diesen Gameten ausprägt, auch ihren Ausdruck in der verschiedenen Ausbildung der sie erzeugenden Organe erhält, und wie endlich die Eizellen unbeweglich und in besonderen Organen eingeschlossen werden, während die männlichen Zellen noch den früheren Schwärmern ähnlich sind und die weiblichen Zellen aufzusuchen befähigt bleiben. An diesem Punkte beginnt dann die weitere Differenzierung der Geschlechtlichkeit, durch welche die ungeschlechtliche Fortpflanzung fast ganz in den Hintergrund gedrängt wird. Man bezeichnet deswegen die chlorophyllführende Reihe des Pflanzenreiches auch als die geschlechtliche Reihe.

Man faßt nun gewöhnlich (s. S. 26) mit den Algen die Pilze zu der großen Gruppe der Thallophyten zusammen, obwohl dazu nur eine geringe Notwendigkeit vorliegt. Denn obgleich die Pilze sich aus den Algen allmählich entwickelt haben und deshalb gleichsam als Abkömmlinge der Algen gelten müssen, sind sie doch in allem zu einer solchen Eigenart der Differenzierung im vegetativen wie im fruktifikativen Aufbau gelangt, daß es besser wäre, sie scharf als chlorophyllfreie Reihe zu trennen, wie dies nach dem Vorgang von Brefeld auch von Engler bereits geschehen ist. Ungleich wichtiger aber als der Mangel an Chlorophyll ist der allmähliche Verlust der Geschlechtlichkeit, welcher die Pilze im Gegensatz zu der grünen Reihe auszeichnet. Mit geschlechtlichen Formen beginnend zeigt das Pilzreich die allmähliche Rückbildung der geschlechtlichen Fortpflanzungseinrichtungen und dafür die Ausbildung von ungeschlechtlich entstandenen Sporen. Wir wollen auf diese Eigenschaft des Pilzreiches am Schlusse des Kapitels noch einmal zurückkommen, nachdem wir die Formen und ihre Eigenschaften kennen gelernt haben.

Den **Anschluß des Pilzreiches an die Algen** dürfen wir nicht bei den höchst stehenden Algenformen suchen, die mit ihrem reich gegliederten Zellen- und Organbau mit den Phanerogamen wetteifern, sondern bei jenen niedrig stehenden Gruppen, deren Thallus noch wenig gegliedert ist und deren Fortpflanzungsorgane noch wenig kompliziert gebaut sind. Hier würden in erster Linie die Siphoneen in Betracht kommen, deren Thallus zwar noch einzellig ist, aber doch bereits Gliederung zeigt, und deren Fortpflanzungszellen teils aus gleich- oder verschiedenartigen Schwärmern, teils schon aus Oogonien und Antheridien bestehen. Wir kennen selbstverständlich die Formen nicht mehr, aus denen die Urpilze hervorgegangen sein könnten. Als Erbteil der Siphoneen besitzt eine ganze Anzahl von Pilzgruppen den einzelligen Vegetationskörper, weshalb man sie als **Phycomyceten** (Algenpilze) bezeichnet. Man stellt ihnen die **Mycomyceten** gegenüber, welche gegenüber jenen durch ein mit Scheidewänden versehenes Mycel ausgezeichnet sind. Weitere Unterschiede dieser beiden Hauptklassen sind das Vorherrschen der geschlechtlichen Fortpflanzung bei den Phycomyceten, das ausschließliche Vorkommen der ungeschlechtlichen bei den Mycomyceten.

Hier soll uns vorerst die Klasse der Phycomyceten beschäftigen. Je nachdem die bei der geschlechtlichen Fortpflanzung beteiligten Zellen gleichartig oder ungleichartig sind, unterscheiden wir die **Zygomyceten** und **Oomyceten**. Ob wir für beide Gruppen einen gemeinsamen Ursprung bei den Algen annehmen müssen, oder ob wir die ersteren von zygosporeenartigen, die letzteren von siphoneenartigen Formen abzuleiten haben, darüber wissen wir nichts. Jedenfalls haben die heute lebenden Vertreter beider Gruppen keine Beziehungen mehr zu einander. Da wir von den Zygomyceten die weitere Differenzierung im Pilzreiche abzuleiten berechtigt sind, so sollen hier zuerst die Oomyceten, welche einen besonderen Zweig des Pilzreiches darstellen, Berücksichtigung finden.

In Form einer Uebersicht würden sich die Hauptgruppen des Pilzreiches etwa folgendermaßen zueinander stellen:



Es ist möglich, daß das Pilzreich polyphyletischen Ursprungs ist; denn einige wenige Formen der Oomyceten, die wir als die niedrigst stehenden ansehen müssen, haben eine große Aehnlichkeit mit Protococcus-artigen Algen. Hierhin gehören noch wenig bekannte Organismen wie *Eomyces, Prototheca* etc., die in Baumschleimflüssen gefunden worden sind.

Wenn wir von diesen hier wenig in Betracht kommenden Gattungen absehen, so lassen sich die einzelnen **Familien der Oomyceten** nach ihren vegetativen und fruktifikativen Organen in folgender Weise unterscheiden.

Als unterste Entwicklungsstufe können wir eine Gruppe von Familien zusammenfassen, die wir als *Chytridiineae* bezeichnen können. Sie bestehen entweder aus einer mehr oder weniger kugeligen Zelle oder aus einem reicher verzweigten Zellschlauch und kommen fast ausschließlich parasitisch in anderen Pflanzen vor. Zur Fortpflanzung bildet sich die einfache Zelle oder ein Anhang des Zellschlauches zu einem Sporangium um, das Schwärmsporen erzeugt. Bei einigen entsteht durch mehrfache Teilung des ursprünglichen Sporangiums ein Sporangiumsorus (Sporangienhaufen). Die Familien dieser Ordnung werden je nach der Ausbildung des Mycels oder der Sporangien unterschieden. Geschlechtliche Differenzierung fehlt vollkommen, so daß es vielleicht wahrscheinlich ist, daß sie als durch den Parasitismus reduzierte höhere Formen, die ihre Geschlechtlichkeit verloren haben, angesehen werden müssen. Gewisse Formen der *Rhizidiaceen,* die an Holz sitzen, werden gelegentlich auch dem Gärungsbotaniker aufstoßen.

Zwei andere Gruppen, die *Ancylistineae* und *Monoblepharidineae,* besitzen Antheridien und Oogonien, die ersteren daneben noch ungeschlechtliche Schwärmsporangien. Beide interessieren uns hier nicht weiter.

Bedeutend höhere Ausbildung der vegetativen Organe zeigt die Familiengruppe der *Saprolegniineae.* Diese besitzen ein reich gegliedertes Mycel, das an besonderen Zweigen Schwärmsporangien bildet. Gleichzeitig werden auch Oogonien und Antheridien erzeugt; die letzteren Organe bilden aber keine schwärmfähigen Antherozoiden mehr aus, sondern treiben nur einen Fortsatz in das Oogon, von dem aus der

Uebertritt der Kerne in die einzelnen O o s p h a e r e n (Eier) erfolgt. Wir haben also hier bereits eine gewisse Reduktion der männlichen Organe vor uns. Man unterscheidet drei Familien. Die *Saprolegniaceae* besitzen schlauchartiges, ungegliedertes Mycel und Schwärmsporangien, die bei mehreren Vertretern durchwachsen werden können, wodurch eine große Anzahl von ineinander geschachtelten Zellhäuten gebildet wird, in deren Mitte das jeweil reifende Schwärmsporangium sitzt. Ihre praktische Bedeutung gewinnen diese Formen, indem sie sich an lebenden Fischen ansetzen und ein seuchenartiges Absterben derselben verursachen können. Die *Leptomitaceae* unterscheiden sich durch das Mycel, welches ringförmige Einschnürungen zeigt und Cellulinkörner (s. S. 156) in den einzelnen Abschnitten besitzt. *Leptomitus* als gefährlicher Abwässerpilz (s. das 14. und 15. Kapitel des III. Bandes) gehört hierher. Endlich werden noch die *Pythiaceae* unterschieden, die .uns hier nicht weiter angehen.

Zeigten die bisher genannten Vertreter der Oomyceten mit wenigen Ausnahmen die ausschließliche Anpassung an das Leben im Wasser, so treten uns in den *Peronosporineae* die ersten L a n d b e w o h n e r entgegen. Sofort werden auch die von den Pilzen in Anpassung an das Landleben als besondere Fortpflanzungsform gebildeten K o n i d i e n erzeugt und zwar bereits in einer ziemlich hohen Ausbildung. Je nach der Form der Konidienträger unterscheiden wir die *Albuginaceae* und die *Peronosporaceae*, erstere mit in der Nährpflanze eingesenkt bleibenden, keuligen Konidienträgern, die reihenweise die Konidien bilden, letztere mit verzweigten hervortretenden Trägern, die an jedem Zweige nur eine Konidie tragen. Alle Arten dieser Gruppe sind Parasiten auf höheren Pflanzen. Obwohl nun für unsere Zwecke hier die *Peronosporaceae* keine Bedeutung haben, so erleichtert uns deren Kenntnis doch in mancher Hinsicht das Verständnis der Beziehungen zwischen Konidie und Sporangium. Wie wir nämlich im § 49 auf S. 191 gesehen hatten, läßt sich die Konidie aus dem Sporangium herleiten. Ein ganz vortreffliches Beispiel dafür

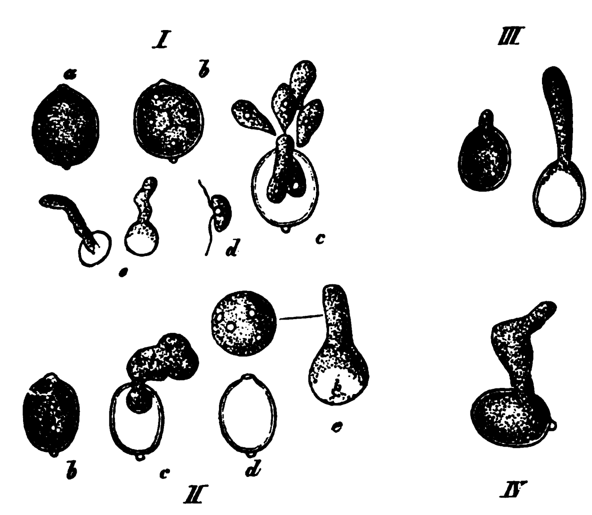


Fig. 55. Keimung der ungeschlechtlichen Sporangien von Peronosporaceen.

I Plasmopara nivea UNG.; in *a* das abgefallene Sporangium, in *b* Teilung seines Inhaltes, *c* Austritt der Schwärmsporen *d*, in *e* deren Auswachsen.

I Plasmopara densa RABH.; in *b* beginnende Teilung des Inhaltes, *c* und *d* Austritt desselben, in *e* sein Auswachsen zum Keimschlauch.

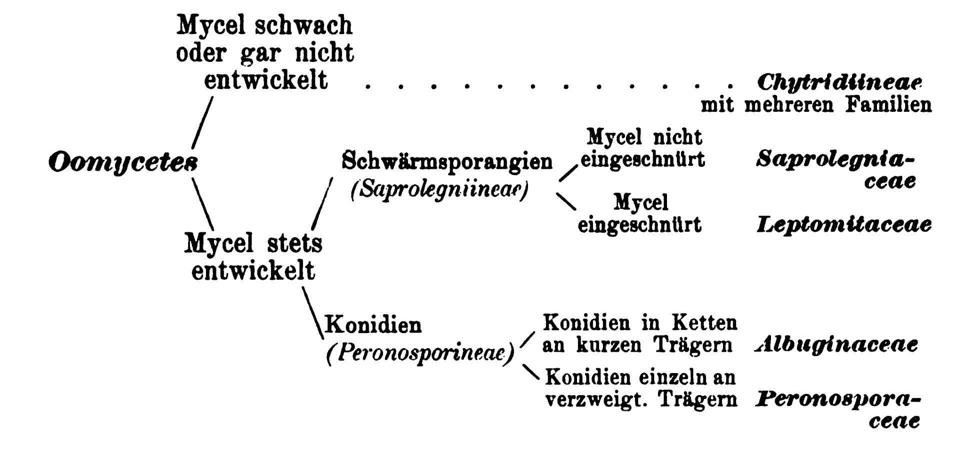
III Bremia lactucae UNG.; das Sporangium ist zur Konidie geworden, die nur am Scheitel auskeimt.

IV Peronospora radii DE BY.; die Konidie keimt auch seitlich aus.

Vergr. 400. Nach DE BARY.

bieten uns die Konidien der Peronosporaceen, welche als ursprüngliche Sporangien aufgefaßt werden müssen, die sich allmählich zu echten Konidien entwickelt haben. So zerteilt sich bei *Plasmopara nivea* (*Fig. 55, I*) der Inhalt der abgefallenen Spore in mehrere Partien, die auskriechen, zu Schwärmsporen werden und dann erst auskeimen. Hier haben wir also noch mehrzellige Sporangien vor uns. Die weitere Reduktion zeigt *Plasmopara densa* (*Fig. 55, II*). Der Inhalt zeigt zwar noch eine beginnende Teilung, bleibt dann aber auf diesem Punkte stehen und schlüpft als Ganzes aus, um dann nicht mehr zum Schwärmer sich umzubilden, sondern unmittelbar auszukeimen. Das Sporangium ist also hier einsporig. Bei *Bremia lactucae* (*Fig. 55, III*) geht die Reduktion noch weiter, indem der Inhalt nicht mehr austritt, sondern einen Keimschlauch an der Spitze austreibt. Hier haben wir also das Schließsporangium oder die Konidie. Endlich befestigt sich der Konidiencharakter dadurch noch weiter, daß der Keimschlauch nicht mehr an der Spitze sondern an der Seite zur Austreibung gelangt, wie es bei *Peronospora radii* der Fall ist (*Fig. 55, IV*). Wir können also lückenlos den Uebergang vom Sporangium zur Konidie verfolgen.

Fassen wir nun die einzelnen Merkmale der wichtigsten Familien der Oomyceten noch einmal zusammen, so erhalten wir folgende Uebersicht:



§ 53. Zygomycetes.

Während die Oomyceten noch hauptsächlich aus Wasserbewohnern bestehen und erst in wenigen Vertretern sich zu Landformen umgebildet haben, zeigen die Zygomyceten bereits ausgesprochene Landformen. Das zeigt sich in ihren ungeschlechtlichen Fruktifikationsorganen. Die ursprünglich vorhandenen Sporangien mit zahlreichen Sporen werden zu zahlreichen Sporangiolen mit wenigen Sporen und endlich zu Konidien reduziert; damit hat sich der Uebergang von einem ursprünglich für die Sporenerzeugung im Wasser bestimmten Organ zu einem der Sporenverbreitung durch den Wind angepaßten Konidienträger vollzogen. Wir unterscheiden zwei Familiengruppen, die *Mucorineae*, welche in der technischen Mykologie eine besonders wichtige Rolle spielen, und die *Entomophthorineae,* welche als Parasiten von Insekten im Haushalte der Natur von großer Bedeutung sind.

In der ersten Familiengruppe, den **Mucorineae,** finden wir ein reich verzweigtes, ungekammertes Mycel, das nur in besonderen Fällen, die bereits im § 44 auf S. 169 erwähnt worden sind, noch Kammerungswände anlegt. Ihren Hauptcharakter erhalten diese Pilze durch die Zygosporenbildung, von welcher der § 47 gehandelt hat. Erwähnt wurde noch im § 50, daß auch die Chlamydosporen- und Oidienbildung nicht selten sich vorfindet. Weitaus am ausgiebigsten erfolgt aber die Fortpflanzung durch Sporangiensporen und Konidien. Von diesen Organen her werden auch die Unterschiede für die weitere Einteilung gewonnen. Die Familie der *Mucoraceae* besitzt vielsporige Sporangien, welche stets mit Columella versehen sind. Wir treffen hier auf außerordentlich wichtige und häufige Pilze, wie *Mucor, Sporodinia, Phycomyces, Thamnidium* u. a. Weitere Mitteilungen über diese Formen werden spätere Kapitel des IV. Bandes bringen. Erwähnt sei noch, daß auch der auf Mist und faulenden Substraten so überaus häufige *Pilobolus* ebenfalls hierher gehört. Er zeichnet sich dadurch vor den übrigen Gattungen aus, daß seine Sporangien mit großer Gewalt vom Träger abgeschleudert werden. Die zweite sporangientragende Familie ist die der *Mortierellaceae.* Ihre Sporangien zeigen keine Columella. Besonders charakteristisch sind die Zygosporen, die durch Hüllfäden eingeschlossen werden. Das gleiche findet man auch bei den Sporangienträgern einiger Vertreter der Gattung *Mortierella*, deren Basis durch Fäden dicht umhüllt wird (*Fig. 56*). Seinen morphologischen Ursprung nimmt dieses Hüllsystem bei den Rhizoiden, welche an den Ausläufern einer als *Rhizopus* bezeichneten Gruppe von Mucorarten stets auftreten. Diese Rhizoiden dienen bei *Mortierella* nicht mehr ausschließlich zur Befestigung, sondern beginnen den Fuß der Sporangienträger zu umwachsen und einzuhüllen. Die große Wichtigkeit, welche diese Tatsache für die Erklärung des Auftretens der Fruchtwandung bei den Ascomyceten hat, werden wir im folgenden Paragraphen sehen. Es folgen nun zwei Familien, welche in Konidien fruktifizieren. Bei den *Chaetocladiaceae* werden die Konidien einzeln an den Endauszweigungen der Konidienträger gebildet, bei den *Piptocephalidaceae* dagegen reihenweise an kurzen Sterigmen, welche Träger bilden, die etwa denen von *Aspergillus* gleichen. Die hierher gehörigen bekannteren Arten finden sich als Parasiten auf *Mucor mucedo*, so z. B. *Chaetocladium, Piptocephalis* und *Syncephalis.* Endlich sei noch nebenbei erwähnt, daß es auch eine kleine Familie mit wenigen Arten gibt, bei der neben den Sporangien auch Konidien vorkommen;

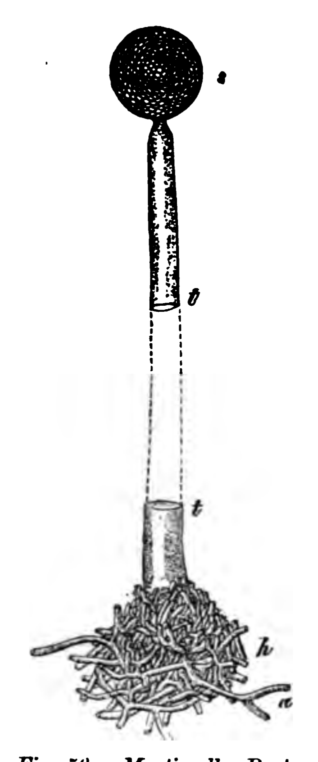
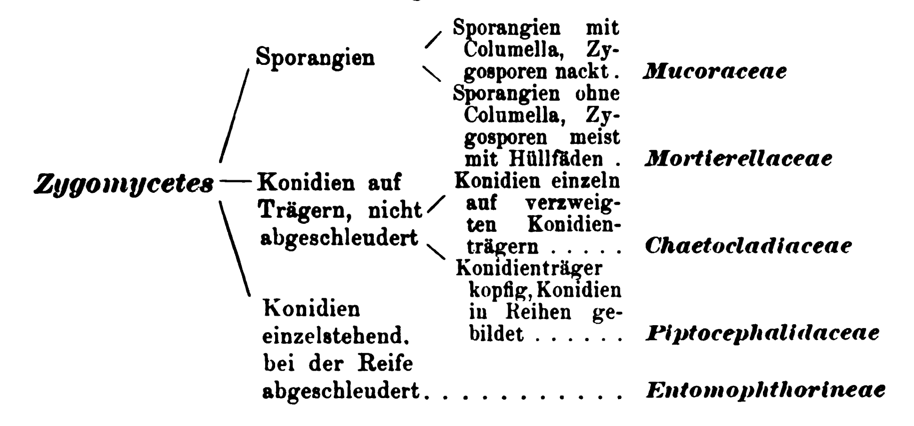


Fig. 56. Mortierella Rostafinskii Brefeld. Das untere Ende des Sporangiumträgers (*t*) ist von einem Geflecht von Hyphen (*h*) eingehüllt, welche von dem Stolo (*a*) sich abzweigen und die erste Andeutung einer Umhüllung des Sporangiums darstellen. — Vergr. 100. Nach Brefeld.

es ist der einzige Fall im Pilzreich, wo beide Arten dieser Fortpflanzungsorgane bei derselben Art vorhanden sind.

Die **Entomophthorineae** bilden eine kleine scharf umschriebene Gruppe, deren Vertreter mit wenigen Ausnahmen in Insekten schmarotzen. Sie besitzen ein im Innern des Insektenkörpers vegetierendes Mycel und lassen ihre Konidienträger aus dem Insekt herauswachsen. Die Konidien werden einzeln endständig gebildet und mit großer Gewalt abgeschleudert. Die geschlechtliche Fortpflanzung wird durch Zygosporen dargestellt. Indessen besitzen nur ganz wenige Arten sie noch in einigermaßen typischer Form; bei den meisten findet eine Kopulation überhaupt nicht mehr statt, sondern es entstehen Azygosporen oder Chlamydosporen. Gewisse Arten bilden nur diese aus, während andere, wozu der bekannte Fliegenseuchenpilz, *Empusa muscae*, gehört, überhaupt keine Chlamydosporen besitzen. Wir müssen in der ganzen Familie Formen erblicken, die durch ihre parasitische Lebensweise gewisse Reduktionen erfahren haben; daß dadurch zuerst immer die Fortpflanzungsorgane geschlechtlicher Art betroffen werden, erscheint nicht verwunderlich, da in den meisten Fällen ohnehin außerordentliche Umstände eintreten müssen, um bei den Zygomyceten überhaupt ihre Ausbildung zu bewirken.

Fassen wir die Merkmale der wichtigeren Familien der Zygomyceten noch einmal zusammen, um folgende Uebersicht zu erhalten:



§ 54. Ascomycetes.

Den Phycomyceten mit einzelligem Mycel stehen die Mycomyceten mit vielzelligem gegenüber. Sie teilen sich in zwei große Klassen, von denen die der einen aus Sporangien, die der anderen aus Konidien hervorgegangene Früchte als Hauptfruchtformen besitzen. Mit der Klasse der sporangientragenden Mycomyceten, das ist die der Ascomyceten, wollen wir uns zunächst beschäftigen. Die Hauptfruchtform aller dieser Pilze ist der Ascus (Schlauch), der sich, wie wir oben (§ 48) gesehen haben, aus dem Sporangium ableitet. Da aber nicht sofort aus dem Sporangium ein fertiger Ascus hervorgeht, so müssen beide Fruchtformen durch eine Reihe von Uebergängen verbunden sein, von denen sich jedoch bis auf die Gegenwart herab nur wenige Reste erhalten haben.

Diese **Uebergangsformen**, die uns einen Blick in das phylogene-

tische Werden des Ascus gestatten, fassen wir unter dem Namen **Hemiasci** zusammen. Sie besitzen noch Sporangien, die aber bereits eine Art von Regelmäßigkeit erkennen lassen, und haben gekammertes Mycel, wodurch sie sich scharf von den Phycomyceten unterscheiden. Die hierher gehörigen Formen sind wahrscheinlich auf mehrere ältere 5 Typen der niederen Pilze zurückzuführen, denn ihre Organisation bietet fast nichts Gemeinsames. Sie besitzen für die allgemeine Mykologie ein außerordentlich hohes Interesse, sind jedoch, mit Ausnahme der *Monascus*-Arten, für die Technik kaum wichtig. Wir treffen hier Formen, wie *Ascoidea*, mit durchwachsenden Sporangien wie bei *Saprolegnia* und hut- 10 förmigen Sporen wie bei manchen *Saccharomyces*-Arten (*Ascoideaceae*), ferner die *Protomycetaceae*, die in ihrem Vertreter *Protomyces* deswegen so wichtig sind, weil dieser Pilz eine 15 typische Chlamydospore erzeugt. Wenn diese dickwandige Spore nach der winterlichen Ruheperiode keimt, so entsteht aus ihr eine lange weite Zelle, die in ihrem vorderen Ende viele 20 Sporen bildet, also ein echtes Sporangium ist (*Fig. 57*). Aus den Sporangiensporen keimen Hefenkonidien aus. Weiter zu erwähnen sind die *Thelebolaceae* mit der Gattung *Thelebolus*. 25 Sie vermittelt den Uebergang zwischen den Zygomyceten mit umhüllter Sporangienträgerbasis (*Mortierella*) und den echten, gehäusetragenden Ascomyceten. Wir können uns *Thelobolus* 30 als ein Sporangium vorstellen, das vollständig von Hüllgewebe umgeben ist; der Stiel ist auf eine kleine, an der Basis des Sporangiums befindliche Zelle reduziert. Oft sind 35 auch mehrere Sporangien in gemeinsamer Hülle eingeschlossen. Endlich sind noch die *Monascaceae* zu erwähnen, deren Sporangien ebenfalls von Hüllfäden umgeben werden. Neuere Autoren haben *Monascus* eine geschlechtliche Befruchtung zugeschrieben, die indessen nach DANGEARD's Untersuchungen nicht statthat. 40

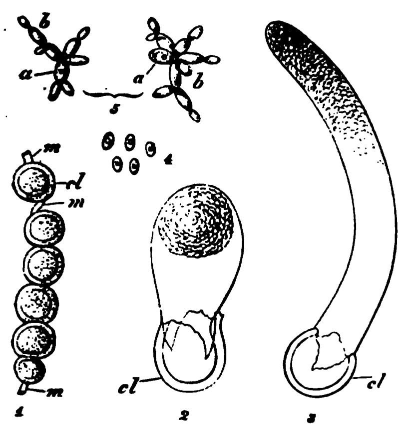


Fig. 57.
Protomyces pachydermus THÜMEN.
1 Stück eines Mycelfadens (*m*) mit reihenweise gebildeten Chlamydosporen (*cl*).
2, 3 Durch Austreiben eines Sporangiums keimende Chlamydospore.
4 Frei gewordene Sporen. *5* In Nährlösung keimende Sporen (*a*), welche Sproßkonidien bilden (*b*). — *1* Vergr. 120; *2, 3* Vergr. 200; *4, 5* Vergr. 320. Nach BREFELD.

Den Hemiasci mit ihren wenigen Arten steht nun die ungeheure Fülle von **Euasci** oder echten Ascomyceten gegenüber, ein schier unübersehbares Formenchaos, das aber doch gewisse phylogenetische Gliederungen erkennen läßt. Wir nehmen als Faden in diesem Labyrinth die Ausbildung der Fruchthülle und des Hymeniums. An den An- 45 fang der ganzen Ordnung stellen wir die *Saccharomycetaceae* oder die echten Hefen. Man kann zweifelhaft sein, ob man sie noch zu den Hemiasci stellen soll oder noch an eine andere Stelle bei den Euasci. Wir wissen nämlich nicht, ob wir es in ihnen mit einfachen Typen oder mit Reduktionen ursprünglich höher differenzierter Formen zu tun 50 haben. Für die letztere Anschauung spricht die gelegentliche Fadenbildung. Man hat bekanntlich in den letzten Jahren eine Sexualität bei mehreren Gattungen beobachtet (siehe das 2. Kapitel des IV. Bandes);

es würden dies die einzigen Formen der ganzen Ascomycetenreihe sein, bei denen Geschlechtlichkeit sich noch nachweisen ließe. Ob es aber damit nicht dasselbe Ende nimmt wie mit der Sexualität von *Sphaerotheca*, *Pyronema* etc., mag dahingestellt sein. Trotz ihrer großen Wichtig- 5 keit für die Technik mögen hier keine weiteren Bemerkungen über die Hefen gegeben werden, da ihre Organisation usw. späterer spezieller Behandlung (im IV. Bande) vorbehalten bleibt.

Als einen Ausgangspunkt der höheren, myceltragenden Ascomyceten müssten die *Endomycetaceae* gelten, welche dadurch ausgezeichnet sind, 10 daß sie am Mycel an kurzen Zweigen die Asken erzeugen. Daneben kommen noch Oidien und Chlamydosporen vor. Einen Vertreter dieser Gruppe zeigt uns der mit *Saccharomyces Ludwigii* in gärenden Schleimflüssen von Eichen vergesellschaftet gefundene *Endomyces Magnusii*, dessen Organisation ganz ähnlich der von *E. decipiens* ist (vgl. *Fig. 50* 15 auf S. 196). An die *Endomycetaceae* schließen sich die *Exoascaceae* an, welche als Parasiten in Blättern und in Aesten leben und ihre Asken in nackten oberflächlichen Lagern entwickeln (vgl. *Fig. 21*). Ob wir es hier nicht mit Formen zu tun haben, die durch den Parasitismus vielleicht aus Discomyceten reduziert sind, wissen wir nicht. Dagegen 20 scheint der Anschluß einer anderen Reihe an die Endomyces-Formen mehr gerechtfertigt. Es sind das diejenigen Formen, welche ihre Asken noch regellos am Mycel bilden und zwischen den fertilen Fäden sterile Hyphen (Capillitium) besitzen; allmählich differenziert sich die Außenschicht der sterilen Hyphen zu einer Rinde und wir erhalten geschlossene 25 Ascusfrüchte, in denen zwischen sterilem Gewebe regellos die Asken als seitliche (oder als endständige) Auswüchse an den Hyphen entstehen. Der morphologische Ort der Ausbildung der Asken ist noch nicht vorgezeichnet. Man faßt diese Gruppe der Ascomyceten als *Plectascineae* zusammen und stellt an den Anfang die *Gymnoascaceae*. Charakterisiert 30 sind diese Pilze durch Fruchtkörper, welche kleine, kuglige Gebilde darstellen, die aus locker verwebten askenerzeugenden Hyphen und Capillitiumhyphen bestehen. Eine Rinde ist noch nicht vorhanden, obwohl durch besondere Anhangsgebilde der zu äußerst gelegenen Hyphen bisweilen ein Anlauf dazu gemacht wird. *Gymnoascus*-Arten finden sich 35 nicht selten als zufällige Eindringlinge in Kulturen. Wenn um diese lockeren Fruchtkörper durch Differenzierung der äußeren Hyphen eine Rinde entsteht, so erhalten wir die Familie der *Aspergillaceae*. Auf eine Schilderung der Organisation dieser Pilze einzugehen, erübrigt sich hier, weil den wichtigsten Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Citro-* 40 *myces* besondere Paragraphen des IV. Bandes gewidmet sind. Von außerordentlich ähnlichem Bau, aber mit viel größeren Fruchtkörpern, erweisen sich einige unterirdisch lebende Pilzgruppen, die gewöhnlich hier angeschlossen werden. Zu ihnen gehören die Hirschtrüffeln (*Elaphomyces*) und die eßbaren Trüffeln des Orients (*Terfezia*).

45 Eine zweite Reihe der Euasci, die sofort mit gehäusetragenden Formen beginnt, schließt sich wahrscheinlich direkt an die Hemiasci an, und zwar an Formen wie *Thelebolus*. Man braucht sich nur vorzustellen, daß die Sporangien von *Thelebolus* sich zu Asken umwandeln, und wir haben eine echte Perisporiacee vor uns. Die Reihe beginnt also mit 50 Familien, welche allseitig geschlossene Fruchtgehäuse besitzen, die sich nicht durch eine vorgebildete Oeffnung sondern durch Verwitterung öffnen. Die erste Familie bilden die *Erysiphaceae* (auch *Erysibaceae*), welche parasitisch auf der Oberfläche von grünen Pflanzenteilen leben.

Das Mycel sendet in die Zellen der Nährpflanze Haustorien und bildet Konidienträger, welche unter dem besonderen Gattungsnamen *Oidium* bekannt sind. Sie bestehen aus kleinen, aufrechten Trägern, die an der Spitze eine Reihe von Konidien bilden. Hierher gehört die vielgenannte *Sphaerotheca*, die seit langem als Paradigma für die Sexualität der Asco- 5 myceten gilt. Vor der Entstehung des Fruchtkörpers spielen sich nämlich folgende Vorgänge ab. Eine kuglige Zelle (Oogon) verwächst an der Spitze mit einem Faden (Pollinodium, Antheridium). Nun soll aus diesem der Kern in jene übertreten und eine Kernvereinigung stattfinden, die dann den Anstoß zur Weiterentwicklung gibt. Diese 10 von HARPER anschaulich gemachte Tatsache leidet nur an einem Fehler, daß es nämlich niemals zu einer offenen Verbindung zwischen Oogon und Pollinod kommt. Es kann also auch kein Kern übertreten, sondern der Kern im Pollinod vergeht und die im Oogon von Anfang an vorhandenen zwei Kerne verschmelzen zu einem, wie überall bei allen 15 Asken. Diese von DANGEARD ganz unzweifelhaft bewiesene Entwicklung entzieht der Sexualitätstheorie jeglichen Boden (vgl. den Schluß des § 56). Eine große Zahl von Arten hat für die Phytopathologie ein großes Interesse, so z. B. der berüchtigte Weinschädling *Uncinula spiralis* mit der Konidienform *Oidium Tuckeri*. Sehr formenreich ist die Familie 20 der *Perisporiaceae*, die äußerlich ganz den Plectascineen gleichen, mit denen sie früher stets vermengt wurden. Wir können nun an diesen Formen die typischen Unterschiede dieser ganzen Euascireihe gegenüber den Plectascineen feststellen. Während diese ihre Asken überall im Gewebe des Fruchtkörpers zur Ausbildung bringen, entstehen bei den 25 hier in Betracht kommenden Familien die Asken stets am Grunde des Fruchtkörpers an ganz bestimmt vorgezeichneter Stelle. Gegenüber den Plectascineen bedeutet das einen wesentlichen Fortschritt. Für die Bildung der Asken kommen bei den Plectascineen sehr viele Fäden in Betracht (allerdings wahrscheinlich aus einem ursprünglichen Faden 30 entstehend), die sich weit verzweigen und regellos den Fruchtkörper durchwachsen, während bei den Perisporiaceen und allen anderen nachfolgenden Gruppen nur ein einziger Faden oder eine einzelne Zelle zum ascusbildenden Organ (**Ascogon**) wird, das, an der Basis des Fruchtkörpers befindlich, an Auszweigungen unmittelbar die Schläuche senk- 35 recht nach oben treibt oder einem Geflecht den Ursprung gibt, welches, an der Stelle des ursprünglichen Ascogons gelagert, die Asken in gleicher Weise bildet. An die Perisporiaceen kann man wohl die Familie der echten Trüffeln (*Tuberaceae*) anschließen, welche durch ihre unterirdischen Fruchtkörper eine eigenartige Stellung einnehmen. Sicher ist der An- 40 schluß hier keineswegs, da man auch eine höhere Differenzierung von plectascineenartigen Formen annehmen könnte.

Der Fruchtkörper der Perisporiaceen und Erysiphaceen wird noch durch Verwitterung gesprengt. Der weitere Schritt in der Vervollkommnung ist die Ausbildung eines besonders vorgezeichneten Ortes 45 zur Sporenentleerung. Gewöhnlich ist dafür ein Loch oder ein Spalt am Scheitel des Fruchtkörpers (**Perithecium**) vorgebildet, während die Ausbildung der Form des Peritheciums die eigenartigsten Wege einschlägt. Wir finden alle Formen des Peritheciums vertreten: von der langhalsigen Flasche bis zur Kugel mit Scheitelporus, von flachen Halb- 50 kugeln bis zu langgezogenen strichförmigen Fruchtkörpern, daneben allerlei Arten von Behaarung, Färbung, Konsistenz der Wandung usw. Diese Verhältnisse werden nun bei der weiteren Gruppierung der Formen

zugrunde gelegt. Dazu kommt dann noch ein weiteres wichtiges Merkmal in der Ausbildung eines **Stromas.** Wir verstehen darunter ein aus vegetativem Mycel gebildetes, sehr mannigfach gestaltetes, polsterartiges Gewebe, in welchem die Perithecien in mehr oder weniger großen Massen entstehen. Durch die Ausbildung des Stromas werden also gleichsam Gruppen von Perithecien zu morphologischen Einheiten zusammengefaßt und damit wird zugleich Gelegenheit zu einer größeren Formenmannigfaltigkeit gegeben. Ob nun die Hauptprinzipien der Einteilung ausschließlich das Stroma oder die Ascosporen bilden sollen, läßt sich vor der Hand nicht entscheiden. Die deutsche Schule bevorzugt das erstere, SACCARDO das letztere Prinzip. Man kann drei Familiengruppen unterscheiden, deren Zusammenhang untereinander noch nicht klar ist. Die erste Gruppe bilden die *Hypocreaceae* mit vielen wichtigen Formen, wie *Nectria, Hypocrea, Claviceps, Cordyceps* usw., die zweite die *Dothideaceae* mit weniger wichtigen Arten und endlich die *Sphaeriales* mit der Hauptmenge aller Formen. Man fasst auch wohl die sämtlichen Formen von den Aspergillaceen beginnend als **Pyrenomyceten** zusammen, worunter man dann alle Ascomyceten mit kugligem Gehäuse verstehen würde.

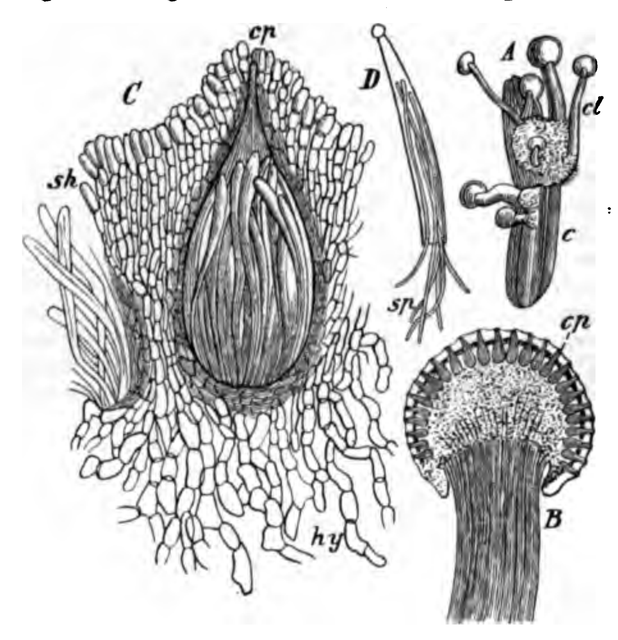


Fig. 58. Claviceps purpurea TUL. (Mutterkorn).
A Ein schwach vergrößertes Sklerotium *c*, aus welchem mehrere keulige Fruchtträger. *Stromata*, herausgekeimt sind (*cl*), bestehend aus einem stielförmigen und einem kopfförmigen Teil.
B Oberes Stück eines Stroma im Längsschnitt mit zahlreichen flaschenförmigen Perithecien (*cp*).
C Stark vergrößertes Perithecium (*cp*) mit keuligen Schläuchen im Innern, zu beiden Seiten Teile des angrenzenden peripherischen dichten Stromagewebes (*sh*); *hy* lockeres Gewebe im Innern des kopfigen Stromateils.
D Ein Schlauch mit einigen fädigen Sporen (*sp*), sein unterer Teil weggeschnitten; stark vergr. — Nach TULASNE.

Angeführt seien von den *Sphaeriales* die Familien der *Sordariaceae* und *Chaetomiaceae* als die verhältnismäßig einfachsten Formen, die häufig auf allerhand Substraten aufzutreten pflegen. Genannt sei noch der Pilz des sich blau färbenden Holzes, *Ceratostomella pilifera*, und *Pleospora* mit reichem Pleomorphismus. Diese Formen sind stromalos. Mit Stroma versehene sind *Valsa, Xylaria, Hypoxylon* u. a.

Außerordentlich vielgestaltig ist der Formenkreis gerade vieler Pyrenomyceten. Neben Konidienträgern kommen meist auch noch Konidienlager oder Pykniden in Betracht, oft bei ein und derselben Art wieder in verschiedene Formen differenziert. Ein Beispiel von

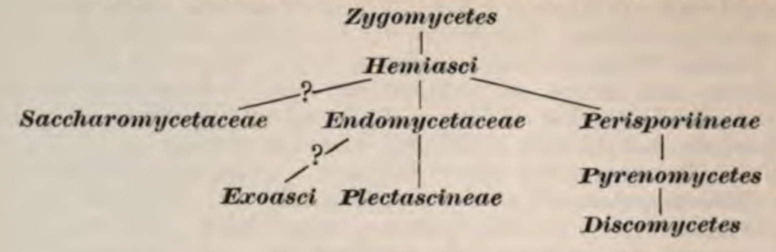
reichhaltiger Pleomorphie bietet der bekannte Mutterkornpilz. Aus den Sklerotien keimt ein Stroma (*Fig. 58, A*); in diesem sitzen die Perithecien mit den fädigen Sporen (*B, C, D*). Diese werden vom Wind auf die Getreideblüten getragen, keimen und bringen am Grunde des Fruchtknotens ein Mycel zur Ausbildung, das sich allmählich zum 5 Sklerotium ausbildet, aber vorher noch an seiner Oberfläche Konidienlager (*Sphacelia*) mit kleinen einzelligen Konidien erzeugt.

Von den Pyrenomyceten mit geschlossen angelegtem Gehäuse leiten sich die **Discomyceten** mit offener Fruchtscheibe ab. Hier ist das Gehäuse gleichsam nur noch als Halbkugel ausgebildet. Wir bezeichnen 10 einen derartigen Fruchtkörper als **Apothecium.** Als eine Art Uebergangsgruppe sind die *Hysteriales* mit mehreren Familien aufzufassen. In ihren niederst stehenden Familien gleichen die Discomyceten noch ganz den Pyrenomyceten; die Apothecien werden geschlossen angelegt und entblößen erst im Laufe der Entwicklung ihre Fruchtscheibe in 15 mehr oder weniger deutlichem Grade. Als Einteilungsprinzip hat man die anatomische Struktur des Gehäusegewebes erkannt. Es würde aber hier viel zu weit führen, auf diese äußerst verwickelten Verhältnisse näher einzugehen. Wir steigen von den Familiengruppen der Phacidiineen, über Patellariaceen, Mollisiaceen, Helotia- 20 ceen zu den höchst stehenden Formen, den Pezizaceen, Ascobolaceen und Pyronemataceen, auf, welche fleischige, weiche, meist lebhaft gefärbte Apothecien besitzen. Wichtig sind unter den Helotiaceen die *Sclerotinia*-Arten, von deren Arten wir eine im 5. Abschnitt des V. Bandes kennen lernen werden, ferner der Pilz des grünfaulen Holzes, *Chloro- 25 splenium*, über welchen im 11. Kapitel des III. Bandes eine Bemerkung zu finden ist, und schließlich unter den Pezizaceen die großen fleischigen Fruchtkörper, die auf nährstoffreichem Erdboden überall vorkommen und sehr augenfällig sind. Mit wenigen Worten sei noch der vermeintlichen Sexualität bei *Pyronema* gedacht. Hier treibt das Ascogon einen 30 fädigen Fortsatz (Trichogyn), der mit dem Pollinod verwächst. Nach Harper soll nun eine offene Verbindung entstehen, und die zahlreichen Kerne des Pollinods sollen in das Ascogon überwandern; in diesem finde dann paarweise Kopulation der Kerne statt. Auch dieser Beobachtung hat Dangeard den Garaus gemacht, indem er nachwies, daß keinerlei 35 Kommunikation stattfindet und die Pollinodkerne niemals überwandern, sondern im Pollinod selber zugrunde gehen. Im Ascogon finden nur die gewöhnlichen Kernvorgänge statt wie bei allen Asken, nur daß hier von allem Anfang an nicht zwei sondern viele Kerne vorhanden sind.

An die Discomyceten würden sich dann endlich die Helvellineen 40 anschließen, bei denen die Fruchtscheibe von vornherein apocarp angelegt wird. Der höchste Typus schließt also wieder an einfache Formen mit nackten Askenlagern an, ohne zu ihnen aber nachweisbare Beziehungen zu besitzen.

Die nachfolgenden Uebersichten sollen versuchen, eine schnelle 45 Orientierung über die Ascomyceten zu ermöglichen.

1.) Beziehungen der Ascomyceten zu den Zygomyceten.



2.) Uebersicht über die Gruppen der Euasci.

Asci einzeln am Mycel stehend . . . . ***Endomycetaceae***
Asci ein offenes, nacktes Lager bildend . . . . ***Exoasci***
Asci in Fruchtkörpern stehend
  Asci regellos im Fruchtkörpergewebe entstehend, Fruchtkörper mit Capillitium ***(Plectascineae)***
    Fruchtkörper ohne deutliche Rinde . . . . . . ***Gymnoascaceae***
    Fruchtkörper mit ausgebildeter Rinde
      Fruchtkörper oberirdisch, sehr klein . . . . ***Aspergillaceae***
      Fruchtkörper unterirdisch, groß . . . . . . ***Elaphomycetaceae, Terfeziaceae etc.***
  Asci am Grunde des Fruchtkörpers entstehend
    Fruchtkörper geschlossen bleibend . . . . . . ***Perisporiineae***
    Fruchtkörper mit apicaler Oeffnung . . . . . ***Pyrenomycetes (Hypocreales, Dothideales, Sphaeriales)***
    Fruchtkörper zuletzt mit offenem, scheibigem Hymenium ***(Discomycetes)***
      Fruchtkörper geschlossen angelegt, später offen . ***Phacidiaceae, Helotiaceae, Pezizaceae etc.***
      Fruchtkörper mit von Anfang an offenem Hymenium ***Helvellaceae.***

§ 55. Fungi imperfecti. Flechten.

Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß zu den durch die Hauptfruchtformen der Asken (und ebenso der Basidien) charakterisierten Ascomyceten (resp. Basidiomyceten) noch **Nebenfruchtformen** gehören. Diese letzteren werden ausschließlich von Konidien oder den von ihnen abgeleiteten Konidienfrüchten gebildet, niemals aber von Sporangien. In vielen Fällen sind die Hauptfruchtformen derartig in den Hintergrund gedrängt worden, daß sie nur unter ganz besonders günstigen Verhältnissen entstehen. Ein bekanntes Beispiel dafür ist der gemeine Pinselschimmel, *Penicillium glaucum*, von dem nur erst wenige Male die Schlauchfrucht beobachtet worden ist. Auch von vielen *Aspergillus*-Arten gilt dasselbe. In den meisten Fällen geht die Bildung der Konidienfrüchte der Ausbildung der Asken voraus oder erfolgt auch gleichzeitig. Dadurch wird häufig der Nachweis, daß zwei Fortpflanzungsformen in denselben Entwicklungskreis gehören, außerordentlich erleichtert, während andererseits bei zeitlicher Trennung des Auftretens die Zusammengehörigkeit oft nur unter außerordentlichen Schwierigkeiten erwiesen werden kann. In vielen Fällen ist es überhaupt noch nicht geglückt, zu einer Konidienform die zugehörige Hauptfruchtform zu finden, während beim Ausgehen von der Ascospore in der Kultur meist die zugehörigen Fruchtformen zu erscheinen pflegen. Wir sprechen

dann von isolierten Konidienformen und fassen alle diese Pilze, deren Zahl eine ungeheuer große ist, unter dem Sammelnamen *Fungi imperfecti* zusammen. Der Name besagt also nicht, daß diese Pilze in ihrer Organisation unvollkommen sind, sondern nur, daß sie in bezug auf ihre Hauptfruchtform unvollständig bekannt sind. Viele von den hierher ge- 5 hörigen Pilzen werden mit der Zeit als zu gewissen Ascomyceten (oder Basidiomyceten) gehörig erkannt werden, mit manchen anderen aber wird kaum etwas anzufangen sein, da die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen ist, daß die zugehörige Askenform vielleicht überhaupt nicht mehr zur Ausbildung gelangt. 10

Um das Chaos der **Formen der Fungi imperfecti** übersehen zu können, hat man sie in ein System gebracht, welches wie das System der anderen Pilze in Familien, Gattungen und Arten gegliedert ist. Man muß sich aber bei dieser Einteilung eines klar machen, daß die Gattungen und Familien nicht etwa phylogenetische Einheiten vorstellen. 15 Aeußerliche Aehnlichkeit im Bau der Früchte und Konidienträger hat zur Zusammenfassung der Arten zu Gattungen geführt, nicht aber etwa die Ueberlegung, daß eigentlich nur diejenigen Arten in ein und dieselbe Gattung gestellt werden dürfen, welche zu nahe verwandten Ascomycetenarten gehören. Man hat deshalb vorgeschlagen, den hier gebräuch- 20 lichen Gattungsbegriff mit dem Ausdruck **Formgattung** zu belegen. Dieser Name würde am bezeichnendsten sein, da er andeutet, daß eben nur äußerlich sich gleichende Arten zu einer Einheit zusammengefaßt werden.

Man unterscheidet **drei große Abteilungen** der *Fungi imperfecti:* 25 die *Sphaeropsideae* mit Konidienfrüchten (Pykniden), die *Melanconieae* mit Konidienlagern und die *Hyphomycetes* mit Konidienträgern, die einzeln oder in Coremien vereinigt sein können. Die ersten zwei Abteilungen kommen für die technische Mykologie nicht weiter in Betracht, um so mehr aber die Hyphomyceten. Alle die vielen Arten von *Torula,* 30 *Monilia, Oidium, Aspergillus, Botrytis, Cladosporium, Fusarium* und vielen anderen Gattungen kommen gelegentlich als Verunreiniger von Kulturen oder praktischen Betrieben vor und werden z. T. in späteren Kapiteln des Handbuches, insbesondere in dessen IV. Bande, noch weitere Berücksichtigung finden. Man unterscheidet unter den Formen mit ein- 35 fachen Konidienträgern die mit hyalinem, farblosem Mycel (**Mucedineen**) von denen mit dunkel gefärbten Hyphen (**Dematieen**). Sind die Konidienträger enger aneinander gerückt, so daß Polster entstehen, so spricht man von **Tubercularieen** (z. B. *Fusarium aquaeductum*); bilden sie dagegen ein Coremium, so nennt man sie **Stilbaceen.** Wer sich 40 näher über die weitere Einteilung dieser Gruppen unterrichten will, muß die systematischen Handbücher zu Rate ziehen. Als solche können dem Leser empfohlen werden: Engler-Prantl (1), dann Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, endlich die allumfassende „Sylloge fungorum“ von Saccardo. Auch der für die Zwecke der Bestimmung 45 einer unbekannten vorgelegten Art berechnete Leitfaden von J. Costantin (1) sei noch genannt.

Es ist hier der Ort, darauf hinzuweisen, daß leider zwischen den Benennungen der Pilzsystematiker und denen der technischen Mykologen gewisse Inkongruenzen bestehen; so werden vom Praktiker die Ab- 50 grenzungen der Gattungen oft ganz anders vorgenommen, als sie sonst in der Systematik üblich sind. Einige Beispiele mögen das Gesagte erläutern. Unter *Oospora* versteht die Systematik eine Gattung mit

hyalinem Mycel, bei der die Konidienträger nur als kurze Mycelzweige ausgebildet sind, an denen die Konidien in Ketten entstehen; vielfach entstehen sie auch oidienartig durch Zerfall der Fäden. Unter *Oidium* dagegen versteht man parasitische Pilze mit Haustorien, die an kurzen
5 Trägern Konidienketten tragen. Man wird hiernach leicht beurteilen können, daß der bekannte Pilz *Oidium lactis* nicht zu *Oidium*, sondern zu *Oospora* zu stellen ist, wie es von den Systematikern längst geschehen ist. Desgleichen dürfte auch *Monilia variabilis* besser zu *Oospora* zu stellen sein; ebenso gehört dahin *Sachsia*, *Oidium pullulans* und *humuli*.
10 Auch der Begriff *Torula* der Gärungstechnik deckt sich durchaus nicht mit dem der systematischen Mykologie. Vielfach wird es freilich schwer sein, einen ausschließlich in Kultur bekannten Pilz richtig in das System einzureihen, da, wie überall im Pflanzenreich so auch hier, die wilde Form in der Natur sich wesentlich von der Kulturrasse unter-
15 scheidet.

Eine wichtige Rolle spielen die Ascomyceten in der Natur als Flechtenbildner. Obgleich nur wenige Formen der großen Abteilung der Flechten technisch wichtig sind, so muß ihre Organisation doch flüchtig gestreift werden. Die **Flechten** sind Thallophyten, die aus
20 Algen und Pilzen zusammengesetzt werden. Die Flechtenpilze, die aus Ascomyceten (nur in wenigen Fällen aus Basidiomyceten) gebildet werden, drücken dem Zwitterwesen ihre Form (wenigstens in den meisten Fällen; vgl. hierzu das auf S. 182 Gesagte) auf und übernehmen die Fortpflanzung durch Ascosporen (Apothecien oder Perithecien) oder
25 Konidien (Pykniden). Die Alge dagegen hat für die Ernährung des Pilzes mit organischen Stoffen zu sorgen und erhält ihrerseits von ihm Wasser und anorganische Salze. Man hat das Verhältnis der beiden Teile zueinander als Symbiose oder Consortium bezeichnet, was aber den Kern der Sache nicht völlig trifft. Der Pilz stellt nichts weiter
30 dar als einen Parasiten auf der Alge, die durch ihn zwar nicht völlig getötet, aber in ihrer Fortpflanzung behindert wird. Sie kommt nicht zur Ausbildung von Reservestoffen und teilt sich äußerst lebhaft vegetativ, wie es mehrfach bei niederen Pflanzen, die in ungünstigen äußeren Bedingungen sich befinden, beobachtet worden ist. Die Flechten sind
35 äußerst vielgestaltig; an der Bildung ihres Thallus nehmen nicht bloß die verschiedensten Algen, sondern auch Pilze der verschiedensten Ascomycetengruppen teil. Man kann daher mit Recht von einem polyphyletischen Ursprung der Flechten sprechen, da Ascomyceten verschiedener Familien zum Parasitismus auf Algen übergegangen sind.
40 Die einzelnen Reihen der Flechten hier zu besprechen, würde zu weit führen, es sei auch hierzu auf die systematischen Handbücher verwiesen.

Nur noch eine Bemerkung über die vegetative Vermehrung der Flechten möge hier Platz finden. Bei vielen Flechten (z. B. auch bei *Roccella*) werden sogenannte Sorale gebildet. Diese entstehen durch
45 Aufreißen der äußeren Thallusschicht und enthalten als pulverigen Inhalt Algenzellen, die Stücke von Pilzhyphen tragen. Kommt ein solches Partikelchen (Soredium), das Alge und Pilz enthält, aus dem Soral an einen günstigen Ort, so kann sich von neuem eine Flechte entwickeln. Zugunsten dieser Fortpflanzungsweise wird häufig die Apo-
50 thecienbildung fast ganz unterdrückt: also auch hier gleichsam ein Seitenstück zu dem Ueberwiegen der Konidienbildung bei manchen Ascomyceten.

§ 56. Basidiomyceten.

Die zweite große Klasse der Mycomyceten, die der **Basidiomyceten**, leitet ihren Ursprung ebenfalls von den Zygomyceten ab. Wir werden nicht fehlgehen, wenn wir Formen, welche unsern heutigen Chaetocladiaceen ähnlich waren, als die Stammväter der konidientragenden Reihe der höheren Pilze ansehen. Wie bei den Ascomyceten die allmähliche Steigerung in der Ausbildung auf die feinere Ausgestaltung des Sporangiums zurückgeführt werden konnte, so finden wir dies in fast noch deutlicherem Maße, und zwar in betreff des Konidienträgers, bei den Basidiomyceten.

Aehnlich wie wir bei den Ascomyceten als unterste Gruppe eine Anzahl von Formen finden, welche noch nicht typische Asken besitzen, so tritt uns an der Schwelle der Basidiomyceten ein Formenkreis entgegen, welcher den Uebergang vom unregelmäßigen zum regelmäßigen Konidienträger, zur Basidie also, aufweist. Das sind die **Ustilagineen** (Brandpilze) oder *Hemibasidii*, wie Brefeld die Gruppe benennt. Sie leben ausschließlich parasitisch auf höheren Pflanzen und zeigen deshalb bei aller Formmannigfaltigkeit doch sehr viele gemeinsame Züge. Obwohl sie für die technische Mykologie kein unmittelbares Interesse besitzen, werden die folgenden Ausführungen erst klar werden, nachdem wir diese Uebergangsformen genauer betrachtet haben. Allen diesen Pilzen gemeinsam ist ein intercelluläres Mycel, welches Haustorien in die lebenden Zellen sendet. Bei der Fruktifikation zerfällt das Mycel in eine Reihe von Einzelzellen, die zu Chlamydosporen werden (ähnlich wie bei *Chlamydomucor*). Von ziemlich dicker und oft skulpturierter Membran umgeben, keimen sie nach einer mehr oder weniger langen Ruhepause unmittelbar fruktifikativ aus. Nach der Art dieser Keimung unterscheidet man die beiden **Familien** der *Ustilaginaceae* und *Tilletiaceae*. Bei der ersteren Familie treibt aus der Chlamydospore („Brandspore") ein kurzer, mycelartiger Schlauch, welcher durch Scheidewände in mehrere übereinander liegende Teilzellen zerfällt; an jeder Teilzelle entstehen ein oder mehrere Konidien (*Fig. 59*). Bei wenigen anderen Arten von *Ustilago* finden sich Abweichungen, auf die hier nicht weiter eingegangen werden kann. Aus den Konidien entwickelt sich nun, wenn sie auf die Nährpflanze, der sie angepaßt sind, gelangen, ein Keimschlauch, welcher in das Gewebe eindringt und darin bis zur Fruktifikation weiter wächst. Auch auf die Art, wie die Brandpilze in der Nährpflanze wachsen, kann hier nicht eingegangen werden. Ganz anders aber gestaltet sich das Bild, wenn eine Konidie nicht auf eine Nährpflanze, sondern nur in andere günstige äußere Verhältnisse gelangt, die ihr die Fortentwicklung gestatten. Dann keimt sie sproßartig aus und bildet große Kolonien von Hefenkonidien (*Fig. 59, 2*); diese Fortpflanzungsart kann bei reichlicher Nahrungszufuhr ununterbrochen fort-

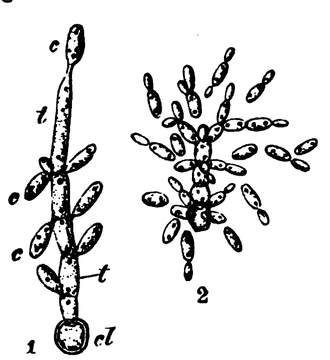


Fig. 59. Ustilago carbo, der Erreger des sogenannten Flugbrandes des Hafers.
1 Aus der Spore (*cl*) ist in Nährlösung ein mehrzelliges Mycel (*t*) herangewachsen, welches hefenzellähnliche Konidien (*c*) hervortreibt. — Vergr. 450. *2* Sproßverbände solcher Konidien. — Vergr. 200. Nach Brefeld.

gehen. Manche der wilden Hefen, die man gelegentlich im Boden etc. findet, führen vielleicht ihren Ursprung auf Brandpilze zurück. BREFELD ist geneigt, den Ursprung der Kulturhefen (*Saccharomyces*) ebenfalls auf brandpilzartige Formen zurückzuführen, indessen wohl mit Unrecht, da die Sprossung als rein vegetativer Vorgang im Pilzreiche dort auftritt, wo das Mycel entsprechende Bedingungen findet. Gerade deshalb, weil die Sprossung kein fruktifikativer Vorgang ist, erscheint sie dem Bereich der phylogenetischen Spekulation entzogen. Die Angehörigen der zweiten Familie, der *Tilletiaceae*, keimen mit einem kurzen Keimschlauch aus, der aus einer Spitze mehrere Konidien erzeugt (*Fig. 60*). Wir treffen also bei den beiden Familien zwei grundsätzliche **Typen der Konidienbildung:** quer geteilte Träger mit pleurogener Konidienbildung und ungeteilte Träger mit akrogener Konidienbildung. Damit sind die beiden Grundtypen für die Weiterentwicklung des Konidienträgers zur Basidie gegeben.

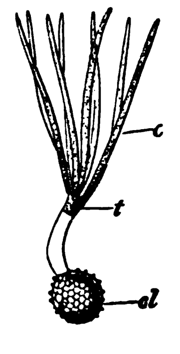


Fig. 60. *Tilletia tritici* (Stinkbrand des Weizens). Keimende Chlamydospore (*cl*) mit kurzem Keimschlauch (*t*) (Konidienträger), der nur an der Spitze Konidien trägt (*c*). — Vergr. 300. Nach BREFELD.

Wir teilen deshalb die echten Basidiomyceten in zwei große Entwicklungsreihen ein: mit geteilten Basidien (*Protobasidiomycetes*) und mit ungeteilten Basidien (*Autobasidiomycetes*).

Bei den *Ustilago*-Arten war, wie wir gesehen hatten, der Konidienträger noch durch eine nicht bestimmte Anzahl von Wänden in übereinander liegende Zellen geteilt und die Zahl der Sporen an jeder Zelle noch nicht konstant. Wenn nun die Zahl der Scheidewände auf drei fixiert wird und die Sporen nur in Einzahl an jeder Teilzelle entstehen, so erhalten wir die geteilte Basidie mit vier übereinander gelagerten Zellen und vier Basidiosporen. Wir treffen diesen Typus bei den *Auriculariineae*. Neben weniger wichtigen Formen, die aber großes theoretisches Interesse besitzen, kommen hier die **Uredineen** oder Rostpilze in Betracht, eine formenreiche Gruppe von parasitischen Pilzen, die für die Praxis, wenn auch nicht gerade für die Technik, von hervorragender Bedeutung ist. Die Rostpilze gehören zu den am meisten pleomorphen Pilzen, denn nicht weniger als drei Formen von Chlamydosporen, Pykniden und Basidien können sich in einem Entwicklungskreis zusammendrängen (vgl. auch S. 198). Nähere Einzelheiten müssen hier übergangen werden.

Neben dieser Basidie mit übereinander liegenden Zellen gibt es nun noch einen zweiten Typus, bei dem die vier (oder zwei) Zellen nebeneinander gelagert sind, so daß sie wie ein Apfel aussieht, der durch zwei senkrecht aufeinander stehende Ebenen in vier Viertel geteilt ist. An jeder Zelle entsteht auf einem Sterigma eine Spore. Man nennt diese Pilze *Tremellineae*. Sie haben für uns hier kein weiteres Interesse.

Es folgen nun die zahlreichen Familien der **Autobasidiomyceten**, deren Charakteristikum darin besteht, daß sie ungeteilte, meist keulige Basidien haben, an deren Scheitel meist vier (aber auch zwei oder sechs) Sporen auf Sterigmen stehen. Wie bei den Ascomyceten so nimmt man auch hier wieder die Art der Ausbildung des Fruchtkörpers zum Führer durch die Formenfülle. Als innerer Grund der weiteren Differenzierung des Hymeniums erscheint das Bestreben, eine möglichst große mit

Basidien bestandene Hymenialfläche auf möglichst kleinem Raume auszubilden. Sehen wir von einigen unwichtigeren Typen ab, so treffen wir zuerst auf Formen, welche den Exoascaceen entsprechen und ebenfalls lagerartige, flache, nackte Hymenien auf lebenden Pflanzenteilen ausbilden. Wir bezeichnen diese Familie als *Exobasidiaceae*. Ob man 5 diese Pilze nicht als reduzierte Formen unbekannter Herkunft auffassen muß, mag dahingestellt sein. Von nun an beginnt eine geschlossene, aufsteigende Entwicklungsreihe. Wir treffen zuerst auf Formen von spinnenwebartigem Bau, die an den Fadenspitzen die noch kein zusammenhängendes Hymenium bildenden Basidien tragen (*Hypochnaceae*). 10 Das Gewebe des sterilen Mycels verfilzt sich mehr und mehr, und die Basidien treten zu flachen, mehr oder weniger ausgebreiteten Lagern zusammen, die sich unter Umständen bereits auf emporgehobenen Mycelunterlagen (Fruchtkörpern) befinden können (*Thelephoraceae*). Von nun an wird das Hymenium auf typischen Fruchtkörpern angelegt, die in 15 ihrer Ausbildung hauptsächlich das Bestreben zeigen, auf möglichst geringem Raum viele Sporen zu produzieren

Auf der untersten Stufe bleibt das Hymenium noch glatt und lagerartig und überzieht die Außenfläche der keuligen oder korallenartig verzweigten Fruchtkörper (*Clavariaceae*). Dann überzieht das Hymenium 20 stachelartige Fortsätze, die in großer Zahl nebeneinander an der Unterfläche des hutartigen Fruchtkörpers stehen (*Hydnaceae*). Ein weiterer Versuch zur Raumersparnis im Hymenium geschieht nun durch Einstülpung besonderer basidientragender Partien (*Polyporaceae*). Auf ungefähr glatten Hymenien entstehen bei den niederst entwickelten Typen 25 dieser Gruppe gehirnartige Einfaltungen, die in der Höhlung die Hymenien tragen (z. B. *Merulius lacrymans*). Die ursprünglich unregelmäßigen Einstülpungen werden dann allmählich zu ganz regelmäßigen tiefen Löchern, die auf der Unterseite von flachen konsolenartigen oder hutförmigen Fruchtkörpern, oft auch als flacher Ueberzug des Substrates 30 nebeneinander stehen. Hierher gehören die sogenannten Baumschwämme, die hochentwickelten *Polyporus*-Arten, ferner die wichtigen Holzbewohner *Lenzites*, *Trametes* und endlich als zierlichste und schönste Form *Boletus* mit vielen eßbaren und giftigen Arten.

Die höchste Vollkommenheit zeigt der Fruchtkörper der *Agaricaceae*, 35 der bekannten Blätterschwämme oder Hutpilze. Bei ihnen bekleidet das Hymenium beide Seiten von blattartigen Lamellen, welche senkrecht stehen und an ihrer oberen Schneide an der Hutunterseite und dem Stiele angeheftet sind, während ihre untere Schneide dem Erdboden zugekehrt ist. Auch in dieser großen Abteilung läßt sich eine gewisse 40 Reihe nachweisen, die mit Formen beginnt, bei denen die Lamellen noch wenig geschützt durch äußere Hüllen angelegt werden, bis schließlich Formen entstehen, bei denen der ganze Hut in einer Hülle steckt und die Lamellen noch einmal mit dem Hutrande durch eine besondere Hülle (Manschette) verbunden und geschützt werden. Auf der untersten Stufe 45 steht der noch fast thelephorenartige *Cantharellus*, der bekannte Pfefferling. Es folgen dann die *Coprinus*-Arten, die Täublinge und Milchlinge (*Russula* und *Lactaria*), die *Cortinarius*-Arten mit spinnenwebartiger Lamellenhülle und endlich die zahlreichen, in viele Untergruppen zerlegten *Agaricineae*, die in den giftigen *Amanita*-Arten mit doppelter 50 Hüllenbildung den Höhepunkt ihrer derzeitigen Entwicklung erreichen.

Daran schließt sich dann eine Reihe von Familiengruppen, die zwar die angiocarpe Entwicklung des Hymeniums als gemeinsames Merkmal

aufweisen, im übrigen aber so verschiedenartig gestaltet sind, daß sich mit Sicherheit noch von keiner einzigen Gruppe ein Anschluß an niedere Typen behaupten läßt. Hierher gehören die häufig als *Gasteromycetes* zusammengefaßten Basidiomyceten mit knolligen Fruchtkörpern und inneren Kammern, deren Wände vom Hymenium ausgekleidet werden. Sie bilden das Gegenstück zu den Tuberaceen unter den Ascomyceten und leben wie diese zum Teil ebenfalls unterirdisch. Endlich seien noch die *Phallineae* erwähnt, eine außerordentlich formenreiche und in ihrer Entwicklung überaus komplizierte Gruppe, die an Schönheit der Formen mit den höheren Pflanzen wetteifert und nicht mit Unrecht als die der „Pilzblumen“ bezeichnet worden ist. Die geringe Bedeutung für unseren Zweck läßt auch bei diesen Formen ein näheres Eingehen nicht geboten erscheinen.

Die nachfolgenden Uebersichten werden den Einblick in das System der Basidiomyceten erleichtern.

1.) Beziehungen der Basidiomyceten zu den Zygomyceten.

Zygomycetes
|
(Ustilaginaceae) Hemibasidii (Tilletiaceae)
| |
(Protobasidiomycetes) ***Autobasidiomycetes***
/ \ / \
Auriculariineae ***Tremellineae*** ***Exobasidiaceae*** ***Hypochnaceae***
(Uredineae etc.)
|
gymnocarpe Familien
(Clavariaceae etc., Agaricaceae)
|
angiocarpe Familien
(Gasteromycetes, Phallineae etc.)

2.) Uebersicht über die Familien der Autobasidiomyceten.

Basidien noch kein zusammenhängendes Hymenium bildend	***Hypochnaceae***
Basidien ein zusammenhängendes Hymenium bildend	
Hymenium gymnocarp:	
Hymenium nackt, nicht auf Fruchtkörpern . .	***Exobasidiaceae***
Hymenium auf Fruchtkörpern:	
Hymenium ein flaches Lager bildend, Fruchtkörper nicht cylindrisch oder korallenartig verzweigt . .	***Thelephoraceae***
Hymenium auf der Außenseite der keuligen oder verzweigten Fruchtkörper	***Clavariaceae***
Hymenium auf Stacheln	***Hydnaceae***
Hymenium eingesenkt in Gruben oder Löchern . .	***Polyporaceae***
Hymenium auf Lamellen	***Agaricaceae***
Hymenium angiocarp:	
Fruchtkörper knollig, oft unterirdisch	***Gasteromycetes***
Fruchtkörper knollig angelegt, das Hymenium auf sich streckendem Stiel von mannigfaltiger Gestalt	***Phallineae.***

Damit ist im vorstehenden ein Ueberblick über den Stand der heutigen Systematik der Pilze gegeben. Die Behandlung des Ganzen mag etwas ungleichartig erscheinen, indem kleine Gruppen genauer, große dagegen nur flüchtig berührt worden sind. Das geschah aber mit Absicht; denn gerade gewisse kleine Abteilungen erweisen sich für das Verständnis des Zusammenhanges als viel wichtiger als die großen formenreichen Abteilungen, deren Bedeutung in ihrer Formenbreite, nicht aber in ihren morphologischen Merkmalen liegt.

Kehren wir jetzt noch einmal an den Ausgangspunkt unserer systematischen Betrachtungen (S. 202) zurück. Dort war gesagt worden, daß das Pilzreich nicht bloß durch seinen Chlorophyllmangel der grünen Reihe des Pflanzenreiches gegenübersteht sondern auch durch die allmähliche Entwicklung der Geschlechtlichkeit zur Ungeschlechtlichkeit. Bei den Phycomyceten konnten wir überall noch geschlechtliche Befruchtung in mehr oder weniger ausgeprägter Form nachweisen, aber schon bei den Zygomyceten setzte der allmähliche Verlust der Geschlechtlichkeit ein, indem sich die Azygosporenbildung geltend machte. Bei den höheren Pilzen ist die Geschlechtlichkeit überall geschwunden. Für die Basidiomycetenreihe ist sie niemals ernstlich behauptet worden, anders bei den Ascomyceten. Hier findet bei vielen Formen bei der Ausbildung des Ascogons eine Verwachsung desselben mit einer anderen Zelle statt. Seit de Bary's Zeiten bemüht man sich, zwischen zwei solchen Organen eine offene Kommunikation zu finden, bis in letzter Zeit durch die Untersuchungen Harper's das Schwinden der Scheidewand zwischen den beiden als Geschlechtszellen betrachteten Organen über allen Zweifel nachgewiesen zu sein schien. Aber schon für *Sphaerotheca* war durch Dangeard einwandsfrei erwiesen, daß die Scheidewand zu jeder Zeit erhalten bleibt. Derselbe Autor hat nun in allerjüngster Zeit in einer glänzenden Widerlegung auch die Untersuchungen Harper's betreffend *Pyronema*, Barker's betreffend *Monascus*, sowie auch betreffend andere Formen auf ihr richtiges Maß zurückgeführt. Danach findet eine Durchbrechung der Scheidewand niemals statt, die behaupteten Kernübergänge vom Pollinodium in das Oogon sind Täuschung. und die gesehenen Kernvereinigungen im Oogon lassen sich auf die normalen Vorgänge, die in jedem Ascus vorkommen, zurückführen. Dadurch ist mit einem Schlage die Sachlage geklärt. In jedem Ascogon, ebenso wie in jeder Basidie, geht der Anstoß zur weiteren Entwicklung von der Vereinigung der ursprünglich darin vorhandenen beiden Kerne aus; aus dem Kopulationskern gehen dann durch neue Teilungen die Sporenkerne hervor. Die beiden ursprünglichen Kerne im Ascogon wie in der Basidie sind nun nicht etwa Schwesterkerne, wie es auf dem ersten Blick scheinen möchte, sondern es sind Kerne fernerer Verwandtschaft, wie von mehreren Forschern an verschiedenen Objekten mit aller Deutlichkeit gezeigt worden ist. Die Vermischung dieser beiden Kerne ist von Dangeard als Geschlechtsakt gedeutet worden, so daß nach ihm die Geschlechtlichkeit aller höheren Pilze in der Vereinigung von zwei, in derselben Zelle befindlichen Kerne weiterer Verwandtschaft bestehen würde. Diese gleichsam innere Geschlechtlichkeit, die im Pflanzenreiche sonst nicht vorkommt, mag vielleicht auch einer anderen Deutung unterliegen, Tatsache ist jedenfalls, daß eine Geschlechtlichkeit im landläufigen Sinne, bei der eine Vereinigung von Kernen verschiedener Zellen vorausgesetzt wird, bei den höheren Pilzen fehlt. Aus diesem Grunde ganz besonders sind wir berechtigt, das Pilzreich als diejenige Pflanzengruppe zu bezeichnen, welche im Laufe ihrer Entwicklung allmählich die Geschlechtlichkeit verloren hat oder kürzer. wir können sie als den geschlechtslosen Ast des Pflanzenreiches allen übrigen Klassen gegenüberstellen.

Literatur

zum Kapitel Systematik der Eumyceten.

***Costantin,** J., (1) Les mucédinées simples, Paris 1888. ***Engler,** (1) Syllabus der Vorlesungen etc., Berlin 1903, 3. Aufl. ***Engler-Prantl,** (1) Die natürlichen Pflanzenfamilien; Abteilung Pilze. ***v. Tavel,** Vergleich. Morphologie etc., Jena 1892. — Vgl. auch die Literatur zum 7. Kapitel.

Dritter Abschnitt.

Die chemischen Bestandteile der Schizomyceten und der Eumyceten.

Von Dr. HUGO FISCHER,
5 Privatdozent an der Universität zu Bonn a. Rh.

(*Manuskript-Einlauf: 22. Juni 1904.*)

11. Kapitel.

Allgemeines und Chemie der Zellmembran.

§ 57. Wassergehalt.

Wie in den Körpern aller Organismen, so steht auch in denen der 10 *Schizomyceten* und der *Eumyceten*, rein quantitativ beurteilt, das Wasser an erster Stelle unter allen chemischen Bestandteilen der Zellen und der Gewebe. Nur Dauerzustände, wie Sporen und Sklerotien, können in sehr wasserarmem Zustande bestehen.

Die **Bakterien**, die in ihrem Nährboden schon einen höheren 15 Feuchtigkeitsgehalt beanspruchen — nach SPIECKERMANN und BRENNER (1) nicht unter 30 Proz. der gesamten Substanz gegen 15 Proz. bei Schimmelpilzen — zeichnen sich auch durch hohen Wassergehalt des eigenen Körpers aus. SCHAFFER (1) fand bei Fäulnisbakterien in Zuchten verschiedenen Alters 84,81, dann 84,26 und 83,42 Proz. Wasser. HAMMER- 20 SCHLAG (1) gibt für Tuberkelbazillen 88,82 Proz. Wasser an, nach einer späteren Untersuchung (2) hingegen 83,1 bzw. 88,7. KAPPES (1) stellte den Wassergehalt von *Bacillus prodigiosus* mit 85,45 Proz., von *Bac. xerosis* mit 84,93 Proz. fest. Der *Bac. pneumoniae* enthält nach BRIEGER (1) 84,2 Proz. Wasser, der *Bac. mallei* nach KRESLING (1) nur 75—78 Proz.; 25 der Gehalt an Trockensubstanz nimmt mit dem Alter zu. Aeußerst gering war der Gehalt an Trockensubstanz in der von NÄGELI und LOEW (1) analysierten Essigmutter; die infolge von Membranverquellung (vgl. die §§ 59 u. 60) allerdings stark gallertige Masse enthielt nur 1,7 Proz. davon.

30 Für **Hefen** geben die letztgenannten Autoren einen Gehalt an fester Substanz von durchschnittlich 17 Proz. an, gegen 83 Proz. Wasser. GUICHARD (1) fand jedoch nur 72 Proz. Wasser einschließlich flüchtiger Stoffe. Ja, nach einer Notiz in FLÜGGE (1) soll der Wassergehalt frisch

lebender Hefezellen bis auf 40 Proz. heruntergehen können. Nähere Angaben darüber bringt der 2. Abschnitt des IV. Bandes. Der Soorpilz (*Saccharomyces albicans*) besteht nach KAPPES (1) zu 81,40 Proz. aus Wasser.

Bei den **Schimmelpilzen** (*Penicillium-*, *Aspergillus-* und *Mucor*-Arten 5 u. a.) schwankt das Verhältnis zwischen Wasser und Trockengewicht sehr bedeutend, je nach den Züchtungsbedingungen. Als Mindestmaß gibt E. CRAMER (1) bei *Penicillium* 7,11 Proz. Trockensubstanz an. SIEBER (1) fand in auf Nährlösung gezogenen Kulturen 84,71 bis 85,74 Proz. Wasser. Wie weit sich auf besonders wasserarmem Nährboden der 10 Wassergehalt herabmindern läßt, ohne daß die Vegetation wesentlich beeinträchtigt würde, steht noch nicht genügend fest.

Bezüglich **höherer Pilze** — hier wie in allen späteren Fällen handelt es sich bei den Angaben stets nur um die Fruchtkörper bzw. Sklerotien, nicht um die (der Untersuchung meist sehr schwer zugänglichen) Myce- 15 lien — liegen eine Anzahl z. T. älterer Untersuchungen vor, die sich ausführlicher, als hier möglich ist, bei ZOPF (2) zusammengestellt finden. Für den Steinpilz (*Boletus edulis* BULL.) gibt STROHMER (1) 90 Proz. Wassergehalt an. In der zwölf Arten umfassenden Tabelle von MARGEWICZ (1) steht der Hallimasch (*Armillaria mellea* FR.) mit 92,80 Proz. 20 Wassergehalt obenan, das Gegenstück bildet der Kapuzinerpilz (*Boletus scaber* BULL.) mit 84,03 Proz., das Wasser übertrifft also 5 bis 13 mal das Trockengewicht. Höher stellt sich letzteres nach CHATIN (1) bei der Speisetrüffel (*Tuber melanosporum* VITT.), deren Wassergehalt nur drei Viertel der frischen Masse beträgt. 25

In scharfem Gegensatz zu den in hohem Grade wasserhaltigen und wasserbedürftigen vegetativen Körpern steht die Wasserarmut der Dauerzustände: der **Sporen** und der **Sklerotien**, denen ihr geringer Wassergehalt auch noch bis auf Spuren entzogen werden kann, ohne daß die Lebensfähigkeit darunter leidet; es scheint, als ob das stets 30 vorhandene fette Oel hier die physiologische Rolle des Wassers vertrete. Im Mutterkorn (s. S. 178) fand ZECH (1) bis zu 14,55 Proz. Wasser. Das Trockengewicht der Sporen von *Penicillium crustaceum* gibt CRAMER (1) mit 61,13 Proz. an, gegen 12,36 Proz. des Mycels. ASO (1) fand bei *Aspergillus oryzae* 57,48 Proz. Trockensubstanz. Aehnlich dürften sich 35 Bakteriensporen verhalten.

Das **spezifische Gewicht** von Bakteriensporen hat ALMQUIST (1) durch Centrifugieren in Mischungen von bekannter Dichte bestimmt, und z. B. das der Sporen von *Bacillus subtilis* zu 1,35—1,40 berechnet, was, da die Sporen stets ölhaltig sind, auf recht geringen Wassergehalt 40 schließen läßt.

§ 58. Elementarbestandteile.

Unter den chemischen Grundstoffen, aus denen die Zellen der Bakterien und Pilze sich aufbauen, stehen selbstredend, wie in allem Organischen, die vier: Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Stickstoff in 45 erster Reihe. Auf ihr prozentuales Verhältnis soll hier nicht näher eingegangen werden, da sich dasselbe ziemlich ausschließlich nach dem Anteil richtet, den die vier Elemente an der Bildung der Eiweißkörper und der hier auch meist mehr oder weniger stickstoffhaltigen, jedoch

im Vergleich mit ersteren in der Regel stickstoffärmeren Membranen nehmen; es wird davon in den nächsten Paragraphen die Rede sein.

Der **Aschengehalt** der Bakterien ist recht großen Schwankungen unterworfen, worüber namentlich CRAMER (2, 4, 5) interessante Unter-5suchungen angestellt hat. Aus der Tatsache aber, daß bei entsprechendem Aschengehalt der Nährlösung derjenige der Spaltpilze bis über 30 Proz. steigt, wobei er also dem Gehalt der umgebenden Flüssigkeit fast gleich kommt, ist wohl kaum auf eine besonders entwickelte Anpassungsfähigkeit zu schließen. — Besser erklärt sich vielleicht die Erscheinung 10 daraus, daß den Spaltpilzen, die ja, wie bekannt, leichter und rascher als andere Zellen gelöste Substanzen durch Diffusion in sich aufnehmen, das „spezifische Wahlvermögen" der höheren Pflanzen fehlt, so daß gelöste Substanzen eben in die Zelle in einer der Umgebung entsprechenden Konzentration eindringen, ohne daß diese sich ihrer zu erwehren 15 vermöchte. Nähere Angaben in dieser Richtung werden das 13. und das 17. Kapitel dieses Bandes bringen. CRAMER befand die Asche von Cholerabazillen zu 8 bis 30 Proz. des Trockengewichts ausmachend. SCHAFFER (1) gibt für unbestimmte Fäulnisbakterien 4,56, dann 3,25 und 5,03 Proz. an (bezogen auf die entfettete Substanz), HAMMERSCHLAG (1) 20 für Tuberkelbazillen 8 Proz., VON SCHWEINITZ und DORSET (1) für die gleichen Bakterien nur 1,77 und 1,92 Proz., BRIEGER (1) für *Bac. pneumoniae* 30,14 Proz., KAPPES (1) für *Bac. prodigiosus* 13,47 Proz., für *Bac. xerosis* 9,52 Proz. Die Gesamtasche der Hefe fanden NÄGELI und LOEW (1) zu 7 Proz. des Trockengewichtes, GUICHARD (1) in frischer Preßhefe 25 6,5 bis 7,2 Proz. KAPPES (1) ermittelte für den Soorpilz 10,83 Proz. Genauere Angaben über den Aschengehalt der Hefen wird der vierte Band des Handbuches in seinem zweiten Abschnitte bringen. Die Mycelien von *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus nigricans* enthaltennach MARSCHALL (1) 6,0 bezw. 6,2 und 6,9 Proz. Asche.

30 Für die Sporen nicht näher bestimmter Schimmelpilze ermittelte CRAMER (3) einen Aschengehalt von nur 1,91 Proz., ASO (1) für die des *Aspergillus oryzae* 5,15 Proz. Unter den Hutpilzen scheinen sich die *Polyporus*-Arten durch geringen Aschengehalt auszuzeichnen; er beträgt (zit. nach ZOPF) bei *Polyporus officinalis* 1,08, bei *P. ovinus* 2,33 Proz. 35 vom Trockengewicht. Höher sind die Angaben für einige Speisepilze: *Morchella*-Arten 8,97 bis 9,42 Proz., *Boletus*-Arten 8,46 Proz., der Champignon (*Psalliota campestris*) 5,31 Proz., der „echte Mousseron" (*Clitopilus prunulus* FR.) 15 Proz. Im Pfifferling (*Cantharellus cibarius* FR.) fand K. FRITSCH (1) 9,99, 10,40, 10,50 Proz., mit dem Alter steigend. Die 40 Trüffel enthält nach CHATIN (1) 2,50 bis 2,80 Proz. Asche; die Angabe bei ZOPF lautet viel höher, auf 8,69 Proz.

Von den einzelnen Mineralstoffen sind an der Zusammensetzung der Pilzzelle wesentlich beteiligt Schwefel, Phosphor, Chlor, Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen, Mangan, überall findet 45 sich auch Natrium, das aber wohl allen Pilzen entbehrlich ist und nur nebenher in den Stoffwechsel gelangt.

Von den genannten Grundstoffen interessieren uns vor allen anderen **Schwefel** und Phosphor, als wichtige Bestandteile der Eiweißkörper. Hinsichtlich des ersteren sind nicht alle Angaben zuverlässig, da der 50 abnorm hohe Phosphorsäuregehalt der meisten Pilz- und Bakterienaschen beim Glühen Verluste an Schwefel verursacht, der als freie Säure in die Luft geht. Auch sonst sind die prozentischen Analysenangaben mit Vorsicht zu gebrauchen, da gelegentlich durch Überwiegen eines

eigentlich unwesentlichen Bestandteiles sich die Verhältniszahlen ganz beträchtlich verschieben können. Nach dem, was im zweiten Absatz dieses Paragraphen gesagt wurde, dürfte das ganz besonders für die Spaltpilze in Betracht zu ziehen sein. Der Schwefel fehlt aus der soeben erwähnten Ursache in sehr vielen Aschenanalysen vollständig, 5 woraus aber natürlich nicht auf seine Abwesenheit im Organismus geschlossen werden darf. Positive Angaben über den Schwefelgehalt von Bakterien finden wir u. a. bei VON SCHWEINITZ und DORSET (1) betreffend Tuberkel- und Rotzbazillen, die 0,22 bis 0,44 Proz., bzw. 0,99 Proz. des Trockengewichtes an Schwefel enthalten, und bei ROMEGIALLI (1), 10 demzufolge die Asche von *Bacterium aceti* zu 7,64 Proz. aus SO_3 besteht. Ganz besonders reich an Schwefel, der sich frei in Kügelchen oder Tröpfchen in den Zellen vorfindet, sind die danach benannten „Schwefelbakterien“; von der merkwürdigen Rolle, die der Schwefel in der Physiologie dieser Organismen spielt, wird im 8. Kapitel des III. Bandes ein- 15 gehender gesprochen werden. Den Schwefelgehalt der Hefe gibt BÉCHAMP (1) mit 5,05 bis 6,38 Proz. der Asche, auf SO_3 berechnet, an. Ausführlichere Mitteilungen darüber im 3. Kapitel des IV. Bandes. ASO (1) fand in den Sporen von *Aspergillus oryzae* 2 Proz. der Asche an SO_3. Die Fruchtkörper der höheren Pilze enthalten Schwefel in wechselnden 20 Mengen, auffallend viel der Champignon, nämlich 24,29 Proz. SO_3 (cit. n. ZOPF), der Steinpilz nach K. FRITSCH (1) 11,71 Proz., der Pfifferling nur 1,31 bis 1,65 Proz., usw.

Durchschnittlich weit höher ist der Gehalt der Pilze (im weiteren Sinne) **an Phosphor,** der sich jedenfalls zum größten Teil in organischer 25 Bindung, in Nucleinen und deren Verbindungen, vorfindet. Die Phosphorsäure beträgt oft die Hälfte oder mehr der gesamten Asche, die infolgedessen sauere Reaktion zeigt. Nach KAPPES (1) berechnet sich der P_2O_5-Gehalt der Asche von *Bac. prodigiosus* und *Bac. xerosis* auf 38,01 bezw. 34,45 Proz. Für Tuberkelbazillen fanden VON SCHWEINITZ und 30 DORSET (2) 55,23 Proz. In einer früheren Arbeit (1) gaben diese beiden Forscher für den Tuberkelbazillus einen Phosphorgehalt von 0,66 bis 0,87 Proz., für den Rotzbazillus von 1,10 Proz. der Trockensubstanz an, später untersuchten sie (4) Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft und Virulenz und fanden 55,54 bis 73,94 Proz. P_2O_5 in der Asche. Das 35 *Bact. aceti* enthält nach ROMEGIALLI (1) nur 18,14 Proz. Sehr hoch ist wiederum der Phosphorgehalt der Hefen (s. Näheres darüber im 3. Kapitel des IV. Bandes). BÉCHAMP (1) z. B. fand 53,44 bis 53,87 Proz. P_2O_5 in der Asche. Fast genaue Uebereinstimmung damit zeigt die Aschenanalyse des Soorpilzes, in welchem KAPPES (1) 52,92 Proz. P_2O_5 nachge- 40 wiesen hat. Aehnlich verhalten sich die Fruchtkörper vieler höherer Pilze. Nach NETTLEFOLD (1) macht bei *Bovista gigantea* Natriumphosphat 72,18 Proz. der Asche aus, die ihrerseits 6,36 Proz. des Trockengewichts beträgt. In den Dauermycelien der *Sclerotinia Libertiana* FUCK. fand DE BARY (1) 48,67 Proz. P_2O_5. Für das Mutterkorn lauten die Analysen 45 auf rund 45 Proz. FRITSCH (1) fand im Steinpilz 23,66 Proz., im Pfifferling 13,08 bis 13,26 Proz. Letzterer Pilz enthält hingegen nach ZOPF (2) davon 31,32 Proz.; es scheint also bei der gleichen Art der Prozentgehalt an den wichtigsten Mineralbestandteilen ganz auffallend veränderlich zu sein. An genannter Stelle ist für die Speisetrüffel ein 50 P_2O_5-Gehalt von 54,21 Proz. angegeben, während CHATIN (1) nur 18,90 bis 23,15 Proz. nachweisen konnte; derselbe Autor (2) fand in nordafrikanischen *Terfezia*-Arten, die den Trüffeln verwandt sind und sie

daselbst vertreten, nur etwa halb so viel P_2O_5 und Kali wie in echten Trüffeln. In den von Aso untersuchten Schimmelpilzsporen (vgl. o.) machte die Phosphorsäure 39,64 Proz. der Asche aus. Dagegen fand Uloth (1) in einem Flechtenpilz, *Evernia prunastri*, nur 1,6 bis 2,5 Proz. 5 P_2O_5.

Das **Chlor,** dem die Funktion zugeschrieben wird, die Nahrungssäfte löslicher und damit leichter verwendbar zu machen, dürfte unter natürlichen Verhältnissen keinem Pilze fehlen. Bezüglich der Frage, ob dieser oder jener Grundstoff in der Kulturflüssigkeit fehlen darf, sei auf den 10 nächsten (vierten) Abschnitt des vorliegenden Bandes verwiesen. Tatsächlich weisen die meisten Analysen Chlor auf, sowohl bei Bakterien wie bei Eumyceten. Romegialli (1) fand in seinen Essigbakterien 2,29 Proz. der Asche als Chlor. Daß meerbewohnende Spaltpilze auch entsprechende Mengen von Chlornatrium enthalten, ist selbstverständlich. 15 Hefen scheinen unter normalen Verhältnissen nur Spuren von Chlor aufzunehmen. Von höheren Pilzen sei (nach Zopf) der Champignon erwähnt, mit 4,58 Proz. Chlor-Gehalt. Große Mengen von Chlorkalium fand Ferry (1) in *Amanita*-Arten.

Unter den Metallen nimmt das **Kalium** sowohl quantitativ wie 20 vermutlich auch physiologisch die erste Stelle ein; wenngleich wir über seine Funktion innerhalb der uns hier interessierenden Organismen noch kaum genaueres wissen, so kann doch wohl kaum ein Zweifel darüber bestehen, daß ihm eine wichtige Rolle im Leben der Zellen zufällt; über seine Unentbehrlichkeit besagt Näheres das 14. Kapitel. Die Verhältnis- 25 zahlen sind wiederum, und zumal bei den Spaltpilzen, recht schwankend. Kappes (1) fand in den beiden oben genannten Arten 11,5 bzw. 11,1 Proz. Kali (= K_2O), von Schweinitz und Dorset (3) in *Bac. tuberculosis* nur 6,35 Proz., Romegialli (1) in *Bact. aceti* 25,59 Proz. der Gesamtasche. Für Hefenasche (s. 3. Kap. d. IV. Bds.) gibt Lintner (1) Werte von 30 26,07 und 38,45 Proz. an, Kappes für den Soorpilz 8,7 Proz. Es ist sehr wohl möglich, daß die gefundenen Unterschiede mehr auf der Zusammensetzung der Kulturflüssigkeit als auf Art- und Rassenverschiedenheit der Organismen beruhen. Sehr hohe Zahlen weisen einige Hutpilze auf: der Champignon und *Boletus*-Arten nach Zopf und Fritsch 50—55 Proz. und 35 darüber, der Pfifferling sogar 59—60 Proz. Die von Aso (1) analysierten Schimmelpilzsporen enthielten 46 Proz. K_2O.

Das Vorkommen von Natrium in Pilzen ist zu unwesentlich, wenn auch zahlenmäßig nicht immer unbedeutend, um hier eingehender behandelt zu werden.

40 Auch das für die Mehrzahl unentbehrliche **Calcium** tritt an Menge meist ziemlich zurück; doch enthalten immerhin nach von Schweinitz und Dorset Tuberkelbazillen 12,64, nach Romegialli Essigbakterien sogar 14 Proz. CaO in der Asche, der Soorpilz nach Kappes 13,6 Proz., also weit mehr denn Kali, die Bierhefen (s. 3. Kap. d. IV. Bds.) nach 45 Lintner 2,85—7,58 Proz. Höhere Pilze scheinen durchweg ziemlich kalkarm zu sein. Relativ viel davon enthält nach Chatin (1) die Trüffel mit 6,5—7,5 Proz., ein Verhältnis, das auf sehr kalkreichem und auf fast kalkfreiem Boden doch sich ziemlich gleich bleibt. Für andere Pilze gehen die Analysen bis unter 1 Proz. CaO herunter.

50 Für das **Magnesium** gelten meist etwas geringere Werte als für Calcium. So enthalten die Tuberkelbazillen (vgl. o.) 11,55 Proz. MgO, also fast ebensoviel wie Kalk, die Essigbakterien aber nur 0,7 Proz. Für Hefen bewegen sich die Analysenangaben ungefähr in der gleichen

Höhe wie betreffend den Kalk. Der Soorpilz enthält nur etwa halb so viel. Aso fand in den Aspergillussporen 4,36 Proz. MgO, mehr als das Vierfache vom CaO-Gehalt. Höhere Pilze führen 0,5—2,5 Proz., manche auch bis über 4 Proz. MgO. Auffallend reich daran ist nach SCHMIEDER (1) der Lärchenschwamm (*Polyporus officinalis*) mit 11,4 Proz. 5

Wir kommen zu den beiden Metallen, die obwohl nur in geringen Mengen vorbanden, doch hochinteressante physiologische Leistungen im Leben der Organismen zu erfüllen haben: zum **Eisen** und zum **Mangan**. Beide sind nicht nur chemisch nahe verwandt, sondern auch in gleicher oder ähnlicher Weise an wichtigen Lebenserscheinungen hervorragend 10 beteiligt, indem sie vermöge ihrer wechselnden Wertigkeit als Sauerstoffüberträger wirken. Unter den quantitativen Analysen stehen ROMEGIALLI's Essigbakterien mit 8,15 Proz. Fe_2O_3 obenan, darauf folgt ULOTH's Flechtenanalyse mit 5,5—6,6 Proz.; Aso's Schimmelpilzsporen enthielten 5 Proz. Meistens bleibt aber bei Schizomyceten wie bei Eumyceten der Gehalt 15 an Fe_2O_3 unter 1 Proz. Bemerkenswert ist der hohe Gehalt der Trüffel, nach CHATIN (1) 5 Proz., besonders darum, weil er auch auf äußerst eisenarmem Boden keine Verminderung erfährt. Noch weit geringer ist der Gehalt an Mangan, das meist nur qualitativ in unbedeutenden Spuren nachgewiesen werden konnte; den Höchstgehalt fand BISSINGER (1) in 20 dem brennend scharf schmeckenden *Lactarius piperatus* SCOP. mit 0,25 Proz. Von der Beziehung, die zwischen Eisen und insbesondere dem Mangan und der Tätigkeit der Enzyme besteht, werden wir noch zu sprechen haben. Die an Eisen ganz besonders reichen „Eisenbakterien" werden gesonderte Behandlung im 7. Kapitel des III. Bandes erfahren. 25

Von Grundstoffen, die mehr gelegentlich in Bakterien oder Pilzen sich finden, sei das **Jod** erwähnt, das GAUTIER (1) in Tetanusbazillen in äußerst geringen Mengen bestimmte, etwas reichlicher (0,002—0,023 mg in 100 g Frischgewicht) in verschiedenen Speisepilzen. In größerer Menge kommt es erklärlicherweise in Beggiatoen vor, zu 36 mg in 100 g 30 Trockensubstanz.

Silicium ist in vielen Pilzen nachgewiesen, auffallend reichlich in den von ROMEGIALLI (1) analysierten Essigbakterien, mit 7,76 Proz. SiO_2. Unter den Eumyceten scheint nach SCHMIEDER (1) der Lärchenschwamm, mit 2,33 Proz., besonders reich daran zu sein; die anderen Angaben 35 bleiben meist weit dahinter zurück. Ungeheuer viel Kieselsäure können aber nach ULOTH (1) Flechtenpilze enthalten, nämlich bis 50 Proz. der Asche.

Der genannte Autor fand im gleichen Objekt auch größere Mengen von **Aluminium**: 1,6—3,5 Proz., auf Tonerde berechnet, die sonst in 40 Pilzen wie Bakterien wohl höchstens spurenweise vorkommt.

Gelegentlich sind auch Lithium, Kupfer und wohl noch dieses oder jenes andere Metall im Reich der Pilze gefunden worden, ohne daß wir von einer wesentlichen Bedeutung dieses Vorkommens etwas zu sagen hätten. 45

§ 59. Stickstoffreie Membranstoffe.

Wenn schon für die Zellmembranen der höheren Pflanzen die Frage nach der chemischen Beschaffenheit nicht mehr so einfach liegt wie zu der Zeit, da man mit den drei Begriffen „Cellulose, verholzte und verkorkte Zellwand" auszukommen glaubte, so treffen wir doch noch ver- 50

wickeltere Verhältnisse im Reich der Pilze, deren Zellhäute sich durch das Eintreten stickstoffhaltiger Verbindungen noch mannigfaltiger gestalten. Zunächst sollen uns hier die Membranstoffe aus der Gruppe der Kohlenhydrate interessieren.

Als Cellulose definiert E. SCHULZE (3, vgl. a. 1, 2) solche Kohlenhydrate von der Formel $(C_6H_{10}O_5)_x$, die in Wasser, Alkohol, Aether, verdünnten Säuren unlöslich und in dem von E. SCHWEIZER (1) eingeführten Kupferoxydammoniak löslich sind, durch Jod und Schwefelsäure bzw. durch Chlorzinkjod[1]) blau bzw. violett gefärbt werden und bei der Hydrolyse in Dextrose aufgehen. CROSS und BEVAN (1) sehen die Cellulose für ein polymeres Keton mit der Einheit $CO \cdot (CHOH)_4 \cdot CH_2$ an.

Neben echter Cellulose kommen, namentlich in Pflanzensamen, auch in Samen- und Fruchtschalen, sog. Hemicellulosen vor. Es sind dies Körper, welche sich durch Löslichkeit in verdünnten kochenden Säuren, z. B. 1-proz. HCl, von der Cellulose unterscheiden, und von denen manche die Jodreaktionen wie oben angeführt geben, andere jedoch nicht, während wieder andere sich schon mit verdünnter Jodlösung allein blau färben, hierin also an die Stärke erinnern. Ihre chemische Zusammensetzung ist wechselnd. Bei der Hydrolyse geben sie Dextrose, Mannose, Galactose, oder Gemische von beiden, oder auch noch Xylose oder Arabinose, wonach man sie als Dextrane, Mannane, Galactane, Manno-Galactane etc. unterscheidet. Uebergänge, auch zur echten Cellulose, kommen vor. Die Reaktion mit Chlorzinkjod können auch Hemicellulosen geben, z. B. die des Endosperms von *Lupinus hirsutus* nach E. SCHULZE und CASTORO (1). An die Hemicellulosen schließen sich verschiedene gummiartige Substanzen an, auf die wir weiter unten näher eingehen.

Des weiteren kommen in Betracht die durch starke Gallertbildung[2]) ausgezeichneten, botanisch zumal von MANGIN (4, 5) untersuchten Pektine, in höheren Pflanzen namentlich die Zwischensubstanz der Zellen ausmachend. Es sind dies Verbindungen von Säurecharakter, in Alkalien und Ammoniumoxalat löslich, nach TOLLENS (1) COOH-Gruppen enthaltende Cellulose, vielleicht als Glycuronsäure in esterartiger Bindung, so daß die Reaktion der Pektine neutral ist, und erst durch Behandeln mit Alkali der Säurecharakter hervortritt. Nach TROMP DE HAAS (1) sind sie etwas stickstoffhaltig und dann vielleicht mit B. SCHROEDER (1) als den Mucinen verwandt anzusehen, jedenfalls also eine noch der Aufklärung bedürftige Körpergruppe. Den Pektinen vielleicht nahestehend ist die zuerst als „Callus" der Siebröhren bekannt gewordene Callose, wie jene in Alkalien löslich und in Kupferoxydammoniak unlöslich.

Die letzteren Stoffe sind bisher in Pilzen fast nur mikrochemisch nachgewiesen worden, und diese meist auf dem Verhalten gegen Farbstoffe fußenden Verfahren sind leider nicht immer zuverlässig. Ganz besonders gilt das von der Unterscheidung durch Farbreaktionen zwischen Cellulose und ihren Verwandten einerseits und dem im nächsten Paragraphen zu behandelnden Chitin andererseits. Da letzteres, bzw. sein bei der Präparation erhaltenes Umwandlungsprodukt, gerade auch mit Jod und Schwefelsäure eine violette Färbung annimmt, so sind Verwechslungen häufig vorgekommen.

Zuerst hat wohl BRACONNOT (1) den nach Auslaugung verbleibenden

---

[1]) Die erstere Reaktion ist zuerst von SCHLEIDEN, die Anwendung des Chlorzinkjods von NÄGELI (1) und v. MOHL (1) angegeben worden.

[2]) Ueber die Koagulation der Pektinsubstanzen vgl. den § 64.

Rückstand höherer Pilze untersucht; er gab der Masse den Namen Fongine, der in der deutschen Literatur als Fungin wiederkehrt. Spätere Forscher haben dann in ähnlicher Weise gewonnene Präparate analysiert und, da die erhaltenen Zahlen mit der Formel $C_6H_{10}O_5$ ungefähr stimmten, das Fungin für bloß verunreinigte Cellulose erklärt, dem 5 also die Eigenschaft eines selbständigen Körpers nicht zukomme.

Es mußte jedoch bald auffallen, daß die Membranen der Pilze gerade jene charakteristischen Reaktionen der Cellulose, die Färbung mit Jod etc. und die Lösung in Kupferoxydammoniak, nicht zeigen, worauf FRÉMY bereits 1859 hingewiesen hatte. DE BARY (1) führte sodann 1866 die 10 Bezeichnung „Pilzcellulose“ ein, unter der die Wandstoffe der Pilzzellen bis in die neuere Zeit gegangen sind. Ein gewichtiger Einwand gegen die besondere Natur der Pilzcellulose lag freilich nahe: die echte Cellulose kann, wenn sie durch Beimengungen, („inkrustierende Substanzen“) verunreinigt ist, ihrer Natur untreu werden und in den charakte- 15 ristischen Reaktionen versagen, welche aber eintreten, sobald jene Substanzen durch Auslaugen entfernt sind; das hatte an höheren Pflanzen C. CRAMER (1) nachgewiesen. Sehr entschieden vertrat K. RICHTER (1) die Meinung, daß echte Cellulose im Pilzreich sehr verbreitet sei, und die Pilzcellulose durch Ausziehen der Fremdkörper in jene verwandelt werden 20 könne. Besonders bestimmt lauten seine Angaben über das Mutterkorn und über *Polyporus*-Arten, die nach wochenlangem Liegen in kalter verdünnter Kalilauge, die am besten mehrmals gewechselt und zuletzt zum Sieden gebracht wurde, deutliche Cellulosereaktion geben sollen. Neuere Untersuchungen (s. u.) lassen an seinen Ergebnissen zweifeln, obwohl 25 gerade für *Polyporus*-Arten die Beteiligung echter Cellulose an der Wandbildung vielleicht nicht unwahrscheinlich ist.

So viel steht fest, daß die eigentliche, echte **Cellulose** im Pilzreich eine recht untergeordnete Rolle spielt. Unter den Bakterien sind nur ganz wenige Fälle bekannt. MIGULA (1) weiß fast ausschließlich von 30 negativen Befunden zu berichten; nur *Sarcina ventriculi* gibt zuweilen, nicht immer, mit Jod und Schwefelsäure Cellulosereaktion. HAMMERSCHLAG (2) gibt für Tuberkelbazillen Cellulosereaktion an, VINCENZI (1) fand bei *Bac. subtilis* keine Reaktion, erhielt auch mittels der Hydrolyse keinen reduzierenden Zucker. Spuren von Cellulose will DREYFUSS (1) 35 bei *Bac. tuberculosis, Bac. subtilis* u. a. gefunden haben. Nach NISHIMURA (2) bildet ersterer in künstlichen Zuchten keine Cellulose, wohl aber im erkrankten Organismus. Regelmäßig soll nur das von A. J. BROWN (1, 2) beschriebene *Bact. xylinum* Cellulose enthalten, die aber wegen ihrer Neigung zur Verschleimung vielleicht mit echter Cellulose nicht identisch 40 ist, wenngleich als Produkt der Hydrolyse ein rechtsdrehender Zucker erhalten wurde. Ja, nach EMMERLING (1) ist die Substanz in Kupferoxydammoniak unlöslich, beim Erwärmen in konzentrierter Salzsäure aber langsam löslich, so daß wir auch diesen Stoff wohl zu den Hemicellulosen stellen müssen. Vgl. übrigens den nächsten Paragraphen. BANNING (1) 45 gibt für sein *Bact. acidi oxalici* an, daß die sehr dicke Membran mit $ZnCl_2+J_3K$ und mit $J+H_2SO_4$ auf Cellulose reagiere. Bezüglich der Hefen ist nach VAN WISSELINGH's (1) eingehenden Untersuchungen die Abwesenheit echter Cellulose als erwiesen anzusehen. Der genannte Autor hat eine große Reihe von Pilzen, ca. 100 aus den verschiedensten 50 Arten, untersucht, und überhaupt bei nur sehr wenigen echte Cellulose gefunden. Diese in sehr reinem Zustande zu gewinnen, erwies sich ein Verfahren am geeignetsten. das darin besteht, die Objekte mit Glycerin

in zugeschmolzenen Glasröhren im Oelbade auf 300° zu erhitzen. So behandelte Schnitte aus höheren Pflanzen ergaben fast reine Celluloseskelette, die sich in Kupferoxydammoniak sehr rasch lösten; die Cellulose scheint durch jene Behandlung gar nicht verändert zu werden, fremde Beimengungen (außer denen der Verholzung) aber werden ihr auf diese Weise vollständig entzogen. So konnte VAN WISSELINGH feststellen, daß unter allen von ihm untersuchten Arten nur gewisse Oomyceten aus den Gattungen *Plasmopara*, *Peronospora*, *Phytophthora*, *Cystopus*, *Saprolegnia* Cellulose enthalten; in allen anderen Fällen, auch bei Bakterien, war das Ergebnis verneinend. Auch in den erst genannten Pilzen war Cellulose nicht der alleinige Membranstoff. Bei *Geaster* fand VAN WISSELINGH in der Peridie und im Capillitium einen gegen Jod und Schwefelsäure mit Blaufärbung reagierenden Stoff, der aber in Glycerin schon unter 250° in Lösung ging und ein nicht mehr sich blau färbendes Skelett übrig ließ. Die Bartflechte, *Usnea barbata*, enthält einen ähnlichen Stoff, der sich mit dem eben genannten Reagens violett färbt, wenn die Säure mäßig stark angewendet wird; in starker Säure tritt keine Färbung sondern Lösung ein, gleichwie in Glycerin bei 300°. VAN WISSELINGH nennt die beiden Substanzen Geasterin und Usnein.

Die letzteren beiden Substanzen zeigen schon ersichtliche Beziehungen zu den **Hemicellulosen** und verwandten **gummiartigen Körpern**, die bei der Mehrzahl aller Pilze, aber wohl niemals allein, als Membranbildner auftreten. Wenden wir uns wieder zunächst den Bakterien zu. Aus *Bact. diphtheriae* isolierte ARONSON (1) ein Kohlenhydrat, das sich in einproz. Salzsäure beim Kochen fast ganz löst und in einen reduzierenden, rechtsdrehenden Zucker übergeht. NÄGELI und LOEW (1) fanden die Zellwand ihrer Essigbakterien gegen Säuren sehr resistent, in Kupferoxydammoniak langsam löslich, also echter Cellulose immerhin nicht unähnlich. Ob man das durch Säuren nur sehr langsam hydrolysierte „Cellulosin“, das VILLIERS (1) nach Einwirkung von Buttersäurebakterien auf Stärkekleister gewann, und dem er die Formel $C_{12}H_{20}O_{10} \cdot 3H_2O$ zuschreibt, den Membranstoffen zuzählen soll, ist fraglich. Was sonst an Zellwandstoffen der Spaltpilze chemisch untersucht ist, zeichnet sich durch starke Verquellung und mehr oder weniger gummiartigen Charakter aus; häufig sind es fadenziehende Schleimstoffe. Der interessanteste Mikroorganismus in dieser Hinsicht ist wohl der schon auf S. 53 genannte *Streptococcus mesenterioides*, der im 6. Abschnitt des II. Bandes eingehender behandelt werden wird. Der von ihm massenhaft produzierte Schleim wurde zuerst 1874 von SCHEIBLER (1) untersucht, der ihn für „Rübenplasma“ ansah. CIENKOWSKI (1) entdeckte den Organismus darin. VAN TIEGHEM (1) erklärte die Substanz für echte Cellulose, nachdem jedoch zuvor schon SCHEIBLER ihre besondere Natur erkannt und ihr den Namen Dextran gegeben hatte. Uebrigens ging bei SCHEIBLER's Verfahren, Kochen mit Kalkmilch, stets nur ein äußerer Teil der Gallertmembran in Lösung, was auf eine kompliziertere Zusammensetzung hinzudeuten scheint. Der Schleim ist von der Zusammensetzung $C_6H_{10}O_5$, und sehr stark rechtsdrehend: $\alpha_j = +223^{\circ}$. Nach LIESENBERG und ZOPF (1) gibt er mit Jod oder mit Jod und Schwefelsäure keine Reaktion, ist in starker Kali- und Natronlauge ebenso wie in Barytwasser löslich, in Chlorzinkjod stark verquellend und färbt sich mit Rosolsäure so wie Callose und Gummiarten. E. KRAMER (1) studierte eingehend seinen *Bacillus viscosus sacchari* und *B. visc. vini*, deren Schleim in der umgebenden Flüssigkeit gelöst, aber, einmal durch

Alkohol ausgefällt, nur quellbar, nicht wieder löslich ist. Auch ihm kommt die allgemeine Formel $C_6H_{10}O_5$ zu; er reagiert nicht mit Jod, und geht, in Laugen gelöst, mit dem Kalium oder Natrium eine Verbindung ein, die mittels Alkohol in feinen Schuppen niedergeschlagen wird. ADAMETZ (1) gibt über die chemische Natur des Membranschleimes von *Bac. lactis viscosus* nichts Näheres an. Der von H. VAN LAER (1) untersuchte *Bac. viscosus* erzeugt einen aus löslichem Kohlenhydrat und unlöslicher stickstoffhaltiger Substanz gemischten Schleim. SCHARDINGER (1) wies in seinem Bakterienschleim Galactan nach. HAPP (1) beschreibt einen *Bac. gummosus* und einen *Micrococcus gummosus*, die eine wasserlösliche Gummose (ebenfalls $C_6H_{10}O_5$) ausscheiden. Von seinem *Bact. gummosum* hebt RITSERT (1) hervor, daß der Schleim keine Drehung der Polarisationsebene zeige. ANDRLÍK (1) untersuchte ein in der Zuckerfabrikation auftretendes Bakterium, das große Mengen von Dextran lieferte. Zuweilen reagieren solche verschleimende Spaltpilzmembranen auf Jodzusatz mit Bläuung, so z. B. bei *Bact. Pasteurianum* nach E. CHR. HANSEN (1) und nach BEIJERINCK (1) auch bei einer Varietät des *Bact. rancens*. Letzterer Forscher weist ausdrücklich darauf hin, daß trotz ähnlicher Farbenreaktion keine Beziehung zur Stärke (Amylum) vorliegt. ARTHUR MEYER (1) schildert, wie bei dem ersteren Bakterium sich die eigentliche Membran dunkelblau, der Schleim sehr viel heller färbt. WARD und GREEN (1) beschreiben ein dem *Leuconostoc* ähnliches Bakterium, das in Zuckerlösung einen auf Jodzusatz purpurrote Färbung annehmenden Schleim entwickelt, welcher hydrolysiert einen reduzierenden Zucker von $(\alpha)_D = +130^0$ liefert. Die Schleimsubstanz ist wohl immer als aus der Membransubstanz hervorgegangen anzusehen (vgl. u. a. HERZFELD [1]); keinesfalls kann sie, wie HAPP (1) meint, durch Zersetzung des Zuckers entstanden sein, da sie ja ein polymeres Anhydrid desselben darstellt. Es ist eine größere Anzahl von schleimbildenden Spaltpilzen bekannt, doch fehlt meist noch die chemische Charakterisierung ihrer schleimigen Produkte; von einigen Arten, deren Schleim stickstoffhaltig ist, wird im nächsten Paragraphen die Rede sein.

Von dem in chemischer und physiologischer Hinsicht am häufigsten und eingehendsten untersuchten aller Pilze, der Bierhefe und ihren Verwandten, ist gerade die chemische Beschaffenheit der Membran noch recht wenig aufgeklärt. Soviel steht fest, daß die Zellhaut weder gegen Jod wie Cellulose reagiert, noch sich in Kupferoxydammoniak löst. Es stimmen ferner VAN WISSELINGH (1) und TANRET (1) dahin überein, daß der Zellwand auch das Chitin fehlt. Die Frage, ob sie aber nicht in anderer Form Stickstoff enthält, wäre noch zu beantworten. Namentlich hält es hier schwer, zu entscheiden, ob dieser oder jener Stoff dem Zellinhalt oder der Zellhaut angehört. Das gilt z. B. gleich von dem Hefengummi, das hier abgehandelt werden soll, weil es zu den Schleimsubstanzen der Bakterien (vgl. o.) unverkennbare Beziehungen zeigt, und weil gummiähnliche Körper auch sonst als Membranstoffe bzw. als Derivate solcher auftreten; hinsichtlich seiner etwaigen Zugehörigkeit zu den Inhaltsstoffen soll damit nichts präjudiziert sein. Durch Auslaugen mit verschiedenen Agentien wollten LIEBERMANN und v. BITTÓ (1) reine Hefencellulose dargestellt haben (mit 1,8 Proz. Asche), welche mit Chlorzinkjod positiv reagierte. SALKOWSKI (2) aber befand sie von Cellulose grundverschieden, da sie sich bei andauerndem Kochen sogar in Wasser teilweise löst und mit verdünnten Säuren sehr leicht in rechtsdrehenden, vergärbaren Zucker umgewandelt wird. Schon NÄGELI und LOEW hatten

die leichte Angreifbarkeit der Hefenzellwand durch Säuren und ihre Unlöslichkeit in Kupferoxydammoniak festgestellt. In einer späteren Untersuchung schreibt SALKOWSKI (4) der Hefe zwei verschiedene Cellulosearten zu, die er als Erythro- und Achroocellulose bezeichnet. Die Erythro-
5 cellulose färbt sich mit Jod braunrot, geht beim Erhitzen unter 2—2½ at in Lösung, opalisiert dann ähnlich dem Glycogen, geht durch Hydrolyse quantitativ in Glucose auf, soll jedoch trotzdem kein Glycogen sein, wohl aber dasjenige, was andere Autoren (vgl. § 67) irrtümlich für Glycogen gehalten hätten; ihre Drehung beträgt $(\alpha)_D = +173{,}70$. Die Achroo-
10 cellulose hingegen bleibt mit Jod ungefärbt und beim Erhitzen unter Druck (2—2½ at) ungelöst, gibt bei der Hydrolyse wesentlich Glucose, daneben auch nicht unerhebliche Mengen von Mannose; sie ist also wohl ohne Frage den Hemicellulosen zuzureihen. Man darf wohl annehmen, daß SALKOWSKI's Erythrocellulose tatsächlich nichts anderes ist als das
15 in Hefen wie in anderen Pilzen verbreitete Glycogen; dann würde als einziger bisher genauer bekannter Membranstoff der Hefe die Achroocellulose übrig bleiben.

Das **Hefengummi,** das wir zuvor unter Vorbehalt zu den zellwandbildenden Stoffen gestellt hatten, ist zuerst von BÉCHAMP aus der „Selbst-
20 gärung“ unterworfener Hefe dargestellt, später von NÄGELI und LOEW (1) genauer untersucht worden. Diese letzteren gewannen den „Pilzschleim“ durch Auskochen von Hefe mit Wasser, Reinigung der Auszüge mittelst Bleiessig und Ausfällung mit heißem Alkohol. Diesen Pilzschleim fanden sie dem SCHEIBLER'schen Dextran ähnlich, jedoch weit schwächer rechts-
25 drehend, um 78° gegen 223° bei jenem; beide reduzieren FEHLING'sche Lösung nicht, werden aber durch sie als käsiger, klumpiger Niederschlag ausgefällt. Das Hefendextran ist in heißem Wasser löslich, dringt sehr allmählich durch Pergamentpapier, wird durch Säuren langsam zu Dextrose hydrolysiert. Es wird durch Gerbsäure und durch Borax nicht ausgefällt,
30 und, im Gegensatz zu gelöster Stärke bzw. zu Arabin, auch von Bleiessig nur auf Alkalizugabe. Mit Jod färbt es sich braun (Glycogen?), und gibt mit HNO_3 Zuckersäure, dann Oxalsäure, keine Schleimsäure. Die Elementaranalyse entsprach der Formel $3(C_6H_{10}O_5) + 2H_2O$. WEGNER (1) beschreibt die nach SCHEIBLER's Verfahren von ihm aus Hefe gewonnene
35 Substanz als Dextran, mit ganz ähnlichen Eigenschaften, wie soeben geschildert, jedoch mit einem Drehungsvermögen von +285,70. Wiederum ein anderes gummiartiges und durch FEHLING'sche Lösung ausfällbares Kohlenhydrat gewann SALKOWSKI (1) aus Hefe, die der Selbstgärung in Chloroformwasser überlassen war (vgl. § 66), und hielt es für
40 Lävulan. Noch ist kaum zu entscheiden, ob diese verschiedenen Substanzen alle in der gleichen Zelle vorkommen, oder von verschiedenen Hefenarten bzw. Rassen herrührten. Noch verwickelter wird die Frage dadurch, daß das von HESSENLAND (1) aus Ober- wie aus Unterhefe dargestellte Hefengummi bei der Hydrolyse weit mehr d-Mannose als
45 Glucose lieferte; Galactan enthält nach HESSENLAND die Hefe nicht, wohl aber bis zu 2 Proz. der Trockensubstanz Pentosan (nach der allerdings nicht immer beweiskräftigen Furfurolreaktion). Dieser Forscher kochte die Hefe mit wenig Kalk dreimal je sechs Stunden, entkalkte mit Ammonoxalat, und schlug aus dem eingedickten und mit Salzsäure an-
50 gesäuerten Filtrat das Gummi mittelst Alkohol nieder; die braungefärbte, gallertige Masse wurde mit Alkohol gereinigt und entfärbt. Zwischen Ober- und Unterhefe waren keine wesentlichen Unterschiede zu finden, die Drehung bestimmte HESSENLAND zu +283,7° bzw. 287,6°. Das

Gummi reagiert nicht mit Phenylhydrazin, reduziert nicht FEHLING'sche Lösung, gibt aber damit einen Niederschlag von der Zusammensetzung $(C_6H_{10}O_5)_2CuO \cdot H_2O$. Abermals wandte dann SALKOWSKI (3) sich der Frage zu, und fand sein Hefengummi demjenigen HESSENLAND's ziemlich gleichartig. Er gewann es durch halbstündiges Kochen der Hefe mit 5 dem 10fachen Gewicht 3proz. Kalilauge, Abhebern vom Rückstand, Versetzen mit 15 Volumprozenten FEHLING'scher Lösung und Erhitzen, Waschen der ausgefallenen Gummi-Kupferverbindung mit Wasser, Verreiben derselben mit wenig tropfenweise zugefügter Salzsäure und Ausfällen des Gummis aus der entstandenen Lösung mittelst Alkohol. Die 10 im wasserhaltigen Zustande stark klebrige Masse, 6,9 Proz. vom Trockengewicht der Hefe ausmachend, ließ sich im wasserfreien Zustand pulvern, erwies sich als aschenfrei und von der Zusammensetzung $C_{12}H_{22}O_{11}$; die Drehung wurde zu $+90,1^0$ berechnet, also weit geringer als nach den Angaben von HESSENLAND und WEGNER. Die Substanz enthält, nach 15 ihrer Reaktionslosigkeit mit Phloroglucin und Salzsäure, kein Pentosan. Von NÄGELI und LOEW's Pilzschleim unterscheidet sie sich durch leichtes Auflösen in kaltem Wasser zu einer klaren, filtrierbaren Flüssigkeit. Von Gummi arabicum ist sie trotz mancher Aehnlichkeit sicher verschieden. OSHIMA (1) gibt unter den Bestandteilen seines Hefengummis 20 neben viel Mannose Methylpentosan an. Wiederum anders lautet eine ältere Angabe von SCHÜTZENBERGER (1), der aus Hefe ein Gummi herstellte, welches bei der Oxydation mittelst Salpetersäure ein Gemisch von Oxal- und Schleimsäure ergab; daraus wäre also auf ein Galactan zu schließen, das die anderen Forscher vermißten. Da wir, wie bemerkt, 25 auch über den Ort, der dem Hefengummi im Organismus zukommt (Membran oder Zellinhalt), noch im Unklaren sind, so dürfen wir es wohl zu den strittigsten Körpern der an ungelösten Fragen nicht eben armen Pilzchemie zählen.

Noch ganz unbekannt in ihrer chemischen Natur sind die Schleim- 30 stoffe, die MEISSNER (1) bei einer Anzahl von Sproßpilzen nachgewiesen hat, welche aus zähem Most und Wein abgeschieden worden waren und welche im 5. Abschnitt des V. Bandes nähere Behandlung finden. Desgleichen verweisen wir hinsichtlich der Erscheinung, die man als gelatinöses Netzwerk bezeichnet, auf das 2. Kapitel des IV. Bandes und 35 das 6. Kapitel des V. Bandes.

Indem wir die Frage, ob aus der u. a. von BECKER (1) beobachteten Schichtung der Hefezellen auf chemische Differenzierung zu schließen sei, auf sich beruhen lassen, erwähnen wir in Kürze, daß von P. LINDNER (1) auch bei einer Hefenart direkte Blaufärbung mit schwacher Jodlösung 40 beschrieben worden ist, nämlich an den Sporenhäuten und den Wandungen der Sporenmutterzellen von *Schizosaccharomyces octosporus*, eine Reaktion die hinsichtlich der chemischen Charakteristik leider sehr wenig zu besagen hat. An pathogenen Sproßpilzen beobachteten CURTIS (1) und E. COHN (1) Kapseln, die, ähnlich manchen Schleimstoffen höherer Pflanzen, 45 sich mit Safranin färben.

Ueber die Membranstoffe der höheren Eumyceten liegen viele Untersuchungen vor, die wiederum eine große Mannigfaltigkeit und das Vorwiegen der Hemicellulosen (im weiteren Sinne) erkennen lassen. Von den wenigen sicheren Fällen des Vorkommens echter Cellulose war bereits 50 die Rede. Callose soll nach MANGIN (2, 3, 6, 8) einen wesentlichen Bestandteil der Zellhaut der Peronosporeen und Saprolegnieen bilden, aber auch sonst im Reich der Pilze verbreitet sein, was von VAN WISSELINGH (1)

[illegible] erzeugen [illegible] andere [illegible] Formen. [illegible] mit einen [illegible] dem [illegible] *Folg-* [illegible]

[illegible] ...rung- [illegible] der [illegible] *genügt* [illegible] Augen [illegible] nachzuweisen [illegible] der [illegible] als. [illegible] als [illegible] schaffte [illegible] und [illegible] sollen [illegible] übertende- [illegible] Behandlung [illegible] ...STEIN [illegible] von [illegible] Gewebes. [illegible] und [illegible] Hirnose [illegible] Hut- [illegible] Pinsel [illegible] Kamm [illegible] Lösung, [illegible] = —25°. [illegible] Bestandteile [illegible] ge- [illegible] mit [illegible] *Cortinar* [illegible] Lücken- [illegible] Lösung. [illegible] Kupfer- [illegible] Da- [illegible] seiner [illegible] stehenden [illegible] ist ge- [illegible] Menge ge- [illegible] häufig [illegible] der [illegible] Kupfer- [illegible] hin- [illegible]

[illegible] ...neren [illegible] besitzen die [illegible] zu färben. [illegible] des Stieles von [illegible] HARLAY

(1) an *Hydnum erinaceus* BULL. und *H. coralloides* SCOP., O. E. R. ZIMMERMANN (1) bei *Mucor*-Arten u. a. m. *Aspergillus niger* bildet nach TANRET (2), bei Temperaturen zwischen 35 und 40° und reichlicher Beigabe von Ammoniumnitrat kultiviert, eine den Hyphenwandungen an- oder eingelagerte Substanz aus, welche dieser Forscher direkt als Stärke („amidon") 5 bezeichnet; sie gibt genannte Reaktion und ist in siedendem Wasser löslich. Die gleiche Jodreaktion ist auch, wie P. LINDNER (1) berichtet, den verschleimenden Membranen der Sproßkolonien von *Dematium pullulans* eigen, deren Quellbarkeit und Gallertbildung zuerst ZOPF (1) beschrieben hat. Schleimbildung findet sich auch bei den höheren Pilzen 10 verbreitet, so in dem Hutüberzug der bei feuchter Witterung durch klebrige Oberfläche ausgezeichneten Arten von *Hygrophorus* u. a. und in zahlreichen anderen Fällen, die sich bei ZOPF (2, S. 369) zusammengestellt finden; chemische Daten fehlen hier noch.

Verholzte Zellmembranen sind hier und da für Pilze ange- 15 geben. Es sind jedoch die Untersuchungen meistens mittelst der Phloroglucin-Salzsäureprobe ausgeführt, die sich längst als unzuverlässig erwiesen hat, weil es auch unverholzte Substanzen gibt, die positiv, und verholzte, die negativ reagieren (vgl. u. a. die Arbeiten von MÄULE [1] und VON FABER [1]). Mittels dieser Methode will HARZ (1) in der harten Peridie von 20 *Elaphomyces cervinus* SCHROET. und im Capillitium einiger *Bovista*-Arten Verholzung nachgewiesen haben. Eine seitens des Verfassers dieses Kapitels angestellte Nachprüfung der ersteren Angabe hatte negatives Resultat. FORSSEL (1) konnte bei vielen Flechtenpilzen niemals Holzreaktion nachweisen. FÜNFSTÜCK (1, S. 26) gibt dagegen an, daß gewisse Flechten- 25 membranen „Infiltrationen" enthalten, deren chemische Natur noch fraglich sei, die aber mit Anilinsulfat und Salzsäure oder mit Phloroglucin und Salzsäure, oder mit Indol und Schwefelsäure auf „Verholzung" reagieren.

Verkorkte Membranen (über die Chemie solcher vgl. GILSON [1]) soll nach RICHTER (1) von zahlreichen untersuchten Arten nur *Daedalea* 30 *quercina L.* besitzen, was VAN WISSELINGH selbst für den einen Fall entschieden bestreitet. Eine „Cutinisierung", die aber von der höherer Pflanzen abweiche, gibt MANGIN (9) für die Sporangienträger von Mucoreen an.

Die letzteren beiden „Modifikationen" der Cellulose, die Verholzung 35 und die Verkorkung, sind also im Reich der Pilze ebenso selten, wie sie unter den höheren Pflanzen verbreitet sind.

§ 60. Stickstoffhaltige Membranstoffe.

Schon in älterer Zeit war es SCHLOSSBERGER und DOEPPING (1) aufgefallen, daß selbst nach sorgfältiger Auslaugung die Zellhäute der 40 Pilze immer noch Stickstoff enthalten, was später HOFFMEISTER (1) und WINTERSTEIN (1) bestätigt fanden. Der letztere gibt eine Reihe von Verhältniszahlen an, wonach die gereinigte „Pilzcellulose" vom Steinpilz (*Boletus edulis* BULL. oder *B. bulbosus* SCHAEFF.) 3,3 bis 3,9 Proz., vom Champignon (*Psalliota campestris* L.) 3,6 Proz., vom Pfifferling (*Can-* 45 *tharellus cibarius* FR.) 3 Proz., von der Speisemorchel (*Morchella esculenta* PERS.) 2,5 Proz., vom gemeinen Brotschimmel (*Penicillium crustaceum* FR. [*glaucum* LK.]) 3,3 Proz., von einer *Botrytis*-Art 3,9 Proz. Stickstoff enthält. WINTERSTEIN beruhigte sich jedoch nicht bei der herkömmlichen Erklärung, daß die Reinigung des Präparates von Eiweißstoffen eben 50

nicht völlig geglückt sei; er überzeugte sich, daß selbst nach der Behandlung mit Kalilauge und mit Salpetersäure und Kaliumchlorat, die alles Eiweiß oder Nuclein hätte entfernen müssen, der Stickstoffgehalt bestehen blieb. Es mußte also an dem Aufbau der Pilzzellwand ein stickstoffhaltiger Körper mindestens beteiligt sein. Kurz nach dieses Forschers Arbeit erschien eine Veröffentlichung von GILSON (3), welche dem Wesen der fraglichen Substanz bereits näher kam. Dieser behandelte nach HOPPE-SEYLER die Objekte mit Kalihydrat bei 180° und erhielt einen in Kupferoxydammoniak unlöslichen Rückstand, der somit Cellulose nicht sein konnte. Er befand dessen Zusammensetzung zu $C_{14}H_{28}N_2O_{10}$ und nannte den Körper **Mykosin**. Es ist dies eine Base, deren lösliches Chlorhydrat ($C_{14}H_{28}N_2O_{10} \cdot 2HCl$) durch konzentrierte Salzsäure niedergeschlagen wird. In verdünnter Salz- oder Essigsäure ist das Mykosin leicht löslich. Durch Jod-Jodkalium-Lösung, die eine Spur freier Säure enthält, wird es rötlich-violett gefärbt. Chlorzinkjod wirkt nach VAN WISSELINGH (1) und ZANDER (1) je nach der Konzentration verschieden; bei 50 Proz. Zinkchlorid-Gehalt erzeugt es eine blaue bis blauviolette Färbung, die der bekannten Cellulosereaktion täuschend ähnlich sieht. Doch tritt nach GILSON die Reaktion mit Jod und Schwefelsäure nur ein, wenn die Agentien verdünnt angewandt werden, was für Cellulose nicht gilt. In Kupferoxydammoniak ist das Mykosin ganz unlöslich.

Bald darauf konnte dann WINTERSTEIN (4) feststellen, daß die Substanz sich mittelst 3-proz. Schwefelsäure spalten lasse in: Dextrose als Hauptprodukt, vielleicht neben anderen Hexosen, in Essigsäure und in eine noch fragliche Stickstoffverbindung. Der Charakter der letzteren wurde dann von WINTERSTEIN (2, 3, 6) dadurch klargestellt, daß aus ihr durch Erhitzen mit konzentrierter Salzsäure sich ein kristallisierbares Produkt abspalten ließ, das sich als identisch mit dem Chlorhydrat des **Glucosamins** erwies. Ein Unterschied zwischen diesem und dem **Chitosamin** besteht nicht, wie E. FISCHER und LEUCHS (1) nachgewiesen haben; sie geben dem Körper folgende Strukturformel:

$$\begin{array}{c} \quad\ \ H\ \ H\ \ H \\ H_2 \cdot OHC \cdot C \cdot C \cdot C \cdot CH(NH_2) \cdot COH. \\ \quad\ \ OH\,OH\,OH \end{array}$$

Mit WINTERSTEIN's Ergebnis war die nahe Uebereinstimmung eines wesentlichen Bestandteiles der Zellwand mit dem (von ODIER entdeckten) **Chitin** erwiesen, das bis dahin nur aus dem Tierreich bekannt war und die harten Teile der Gliederfüßler oder Arthropoden, d. i. der Insekten, Spinnen und Krebse, bildet. Auch dieses liefert, wie LEDDERHOSE (1) früher gezeigt hatte, das von ihm entdeckte und benannte Glucosamin, und zwar als Chlorhydrat, aus welchem die freie Base

$$CH_2OH \cdot (CHOH)_3 \cdot CHNH_2 \cdot CHO$$

abgespalten werden kann. War der Schluß, daß bei den Pilzen Chitin oder ein nahe verwandter Körper vorkomme, berechtigt, dann mußte sich auch nach dem Verfahren von HOPPE-SEYLER (1) mit schmelzendem Aetzkali bei 180° die Spaltung in Essigsäure und **Chitosan** vollziehen. Das ist aber der Fall; denn das Mykosin GILSON's (vgl. o.) ist tatsächlich mit dem Chitosan identisch oder eng verwandt. Es ist eine Tatsache von höchstem Interesse, daß wir einen wichtigen Hautstoff (das Chitin) und ein bedeutsames Reserve-Kohlenhydrat (das Glycogen, vgl. § 67), welche beide dem Reiche der Tiere angehören, auch in weiter

Verbreitung bei den Pilzen antreffen, während beide den grünen Pflanzen fehlen.

Gilson (4) und Winterstein (7) haben dann aus dem Champignon Chitin abgeschieden, dessen Stickstoffgehalt letzterer zu 6,24 Proz. ermittelte, was gut mit den 6,01 Proz. übereinstimmt, die Städeler (1) für das tierische Chitin gefunden und Araki (1) bestätigt hat. Nach diesen Forschern hätte das Chitin die Formel $C_{18}H_{30}N_2O_{12}$. Die beiden oben geschilderten Spaltungen lassen sich danach in den Gleichungen ausdrücken:

$$C_{18}H_{30}N_2O_{12} + 2H_2O = C_{14}H_{26}N_2O_{10} + 2 \cdot CH_3 \cdot COOH.$$
$$C_{14}H_{26}N_2O_{10} + 2H_2O = 2C_6H_{11}O_5 \cdot NH_2 + CH_3 \cdot COOH.$$

Das Glucosamin, bzw. das Chitin, wird durch längere Einwirkung konzentrierter Salzsäure in Ammoniak und Zucker gespalten. Eine neuere Methode zum Nachweis des Glucosamins gibt Steudel (2): Ausfällung mit Phenylcyanat; der Niederschlag gibt, mit Essigsäure erwärmt, ein kristallisierendes Anhydrid. Nach Sundwik (1) zeigt das Chitosamin-Chlorhydrat Birotation.

Dreyfuss (1) hatte zur Reindarstellung der Zellwand seine Objekte mit Aetzkali bei 180° behandelt, wodurch das vorhandene Chitin in Chitosan umgewandelt werden mußte. Richter (1) hatte auf seine Präparate längere Zeit schwächere Kalilauge in der Kälte einwirken lassen, wodurch nach van Wisselingh (1) ebenfalls jene Umwandlung erfolgt. Es erklärt sich also leicht, wieso jene Forscher, angesichts der oben betonten Aehnlichkeit in den Reaktionen, von dem regelmäßigen Vorkommen echter Cellulose bei den Pilzen überzeugt sein konnten.

Es darf nicht vergessen werden, daß das Chitin selbst noch keineswegs einen ganz einwandfreien und einheitlichen chemischen Körper darstellt, wenngleich die meisten Chitine untereinander übereinstimmen dürften. Schmiedeberg (1) bestätigt zwar neuerdings die Formel $C_{18}H_{30}N_2O_{12}$. Fränkel und Kelly (1) vermuten jedoch eine weit höhere Molekularformel. Zander (1) fand die Farbenreaktion mit Jod durchaus nicht einheitlich. Farkas (1) gibt für die chemisch jedenfalls sehr nahestehende Substanz, welche die Schale des Seidenraupeneies bildet, weit höheren Stickstoffgehalt an, nämlich 15,64 Proz. Es handelt sich also hier wohl um eine ganze Gruppe von Körpern, und wir werden „das Chitin“ für einen Sammelbegriff ansehen müssen. Zu den Eiweißkörpern selbst gehört das Chitin wohl nicht (vgl. Cohnheim [1, S. 284]), dürfte aber mit ihnen in engem genetischem Zusammenhang stehen.

Ueber das **Vorkommen des Chitins unter den Pilzen** und über dessen örtliche Verteilung verdanken wir van Wisselingh (1) eingehende Untersuchungen. Er fand kein Chitin bei Bakterien, Hefen und bei den Oomyceten. Bei fast allen anderen, sehr zahlreichen, untersuchten Arten konnte Chitin nachgewiesen werden; nur die Flechtenpilze enthalten meist wenig oder gar nichts davon. Auf die Anführung von Einzelangaben dürfen wir hier verzichten; es sei nur auf die Quelle verwiesen.

Das Chitin bildet wohl niemals den alleinigen Membranstoff; worauf schon die oben angegebenen niedrigen Stickstoffzahlen hindeuten. Es sind wohl stets die vorher besprochenen Hemicellulosen und ähnliche Körper, die, vielleicht in eigenartiger Bindung mit dem Chitin, die Zellwand der Pilze zusammensetzen, wie Winterstein vermutet. Aus dieser Bindung ist das Chitin nur durch tieferen Eingriff zu befreien, nach Iwanoff (1) nicht mittelst Kupferoxyd-

ammoniak (da es sich ja nicht um Cellulose im engeren Sinne handelt). Löst man, diesem Forscher folgend, die Membran in kalter konzentrierter Salzsäure und fällt durch Verdünnen mit viel Wasser, so enthält der Niederschlag 7,71 Proz. Stickstoff, also annähernd ebensoviel wie das
5 Chitin. Diesen 7,71 Proz. Stickstoff entspricht z. B. in der Gesamtsubstanz der Membran von *Aspergillus niger* ein Stickstoffgehalt von 2,66 Proz. Nach TANRET's (1) ungefährer Schätzung enthält *Aspergillus niger* 15 Proz. Chitin. Daß verschiedene Hyphen des gleichen Pilzes verschieden hohen Chitingehalt besitzen, glaubt in einem besonderen Fall
10 KINDERMANN (1) annehmen zu dürfen.

Chitin oder ihm mehr oder weniger ähnliche Körper kommen aber trotz VAN WISSELINGH's gegenteiliger Meinung auch bei Spaltpilzen vor, was für das *Bacterium xylinum* durch EMMERLING (1) einwandsfrei bewiesen wurde. Für Tuberkelbazillen geben RUPPEL (1) und HELBING (1)
15 übereinstimmend Chitinreaktion an. Ersterer Autor (2) läßt die Frage offen, ob es sich um keratin-, chitin- oder fibroinähnliche Stoffe handele. HELBING will durch den Reichtum an Chitin das eigenartige Verhalten der Tuberkelbazillen gegen Anilinfarben erklären. KRAWKOW's (1) Analyse von Häuten des *Bac. pyocyaneus* mit 8,82 Proz. Stickstoff könnte ebenfalls
20 auf Chitin hindeuten; das Präparat war auffallend reich an Eisen, welches ca. ein Sechzehntel der 23,14 Proz. betragenden Asche ausmachte. Andererseits stimmen die Ansichten vieler Forscher (vgl. MIGULA [1, S. 65], ALFRED FISCHER [1, S. 11]) dahin überein, daß die Bakterienmembran Eiweiß enthalte, was freilich aus der Farbstoffspeicherung allein
25 schwerlich zu beweisen ist. Gerade hier scheint eine große Mannigfaltigkeit zu herrschen. Daß am Aufbau der Zellwand Kohlenhydrate beteiligt sind, wurde im vorigen Paragraphen eingehend besprochen. Es liegen aber auch Analysen vor, deren Ergebnisse selbst über den Stickstoffgehalt reinen Chitins hinausgehen, so z. B. die von IWANOFF (1),
30 der in den Zellhäuten von *Bac. megaterium*, *Bac. pyocyaneus* und *Bac. anthracis* 8,44 bzw. 8,82 bzw. 8,84 Proz. Stickstoff fand, während der Befund betr. die Membran von NISHIMURA's (1) Wasserbazillus besser mit dem der prozentischen Zusammensetzung des Chitins übereinstimmt. Auf Eiweiß scheint auch das Verhalten der Zellwand der Pilze gegen Eau
35 de JAVELLE hinzuweisen, von welchem Reagens sie nach ARTHUR MEYER (2) ziemlich rasch gelöst wird. Auch der Membranschleim ist öfters stickstoffhaltig; mucinartige Körper sind angeblich von CHARRIN und DESGREZ (1) im *Bac. pyocyaneus* (der Schleim enthielt auch Schwefel), von LEPIERRE (1) im *Bac. fluorescens*, von MALERBA (1) in seinem *Bact.*
40 *gliscrogenum* gefunden worden. Der von SCHARDINGER (1) untersuchte Bakterienschleim bestand seiner Hauptmasse nach aus Galactan, die fadenziehende Eigenschaft aber rührte von dem Gehalt an Mucin her. Auch Mucine spalten, wie das Chitin, Glucosamin ab, geben aber nach WEYDEMANN (cit. nach LANGSTEIN [1, S. 88]) keine Chitosanreaktion.
45 PETRI (1) fand die Kapseln seines *Bac. capsulatus Trifolii* in Pepsinsalzsäure, in verdünnter Lauge und in Kalkwasser löslich und vermutet, wohl mit Recht, einen eiweißartigen Körper. Aber auch die Bierhefen geben Schleimstoffe von sich, die nicht nur gummiartiger Natur sind, sondern, wie WILL (1) für eine Reihe von Fällen nachweisen konnte, in
50 allen typischen Reaktionen mit dem Eiweiß übereinstimmen. Da sie auch in eiweißfreien Nährlösungen auftreten, so ist ihre Erzeugung und Absonderung durch die Hefenzelle zweifellos. Nur ist es fraglich, ob sie gerade der Membran entstammen.

Zum Schluß seien einige quantitative Notizen angeführt. Nägeli und Loew (1) geben für Zellhaut und Pilzschleim 37 Proz. vom Trockengewicht der Hefe an. Sieber (1) fand in seinen Schimmelpilzkulturen 40 bis 55 Proz. „Cellulose". Aso (1) berechnet für seine Schimmelpilzsporen 9 Proz. „Rohfaser". Die Tabelle von Margewicz (1) weist für eine Anzahl von Hutpilzen Zahlen zwischen 17,50 und 42,35 Proz. Zellstoff in der Trockensubstanz nach; die höheren Zahlen gelten für die Stiele, die niederen für den Hut der Pilzkörper, welch letzterer sich dafür durch höheren Eiweißgehalt auszeichnet. Die Angaben über Bakterien sind zu schwankend und angesichts der Schwierigkeit, Membran und Inhalt, deren große Aehnlichkeit in chemischer Hinsicht oben betont wurde, zu trennen, auch zu unzuverlässig, als daß sich ein näheres Eingehen darauf verlohnte.

Literatur

zum Kapitel Allgemeines und Chemie der Zellmembran der Schizomyceten und der Eumyceten.

***Adametz,** L., (1) Landw. Jahrbücher, 1891, Bd. 20, S. 185. ***Almquist,** E., (1) Z. f. Hyg., 1898, Bd. 28, S. 321. ***Andrlik,** K., (1) Z. f. Zuckerindustrie in Böhmen, 1895, Bd. 20, S. 84. ***Araki,** T., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1895, Bd. 20, S. 498. ***Aronson,** H., (1) Arch. f. Kinderheilkunde, 1901, Bd. 30. ***Aso,** K., (1) Bull. of the College of Agricult. Tokyo, 1900, Bd. 4, S. 81. ***Banning,** Fr., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 395. ***de Bary,** A., (1) Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten, Leipzig 1866. — (2) Bot. Ztg., 1886, Bd. 44, S. 377. ***Béchamp,** A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1871, Bd. 73, S. 337. ***Becker,** C., (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1899, Bd. 22, S. 597. ***Beijerinck,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 209. ***Bissinger,** (1) Arch. d. Pharmacie, 1883, Bd. 221, S. 321. ***Bourquelot,** E., (1) Bull. Soc. Mycologique de France, 1891, Bd. 7, S. 155. — (2) Ebenda, 1894, Bd. 10, S. 133. ***Braconnot,** H., (1) Journ. de Physique et de Chimie, 1811, Bd. 73, S. 130. ***Brieger,** L., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1885, Bd. 9, S. 91. ***Brown,** A. J., (1) Chemical News, 1886, Bd. 53, S. 237. — (2) Ebenda, 1887, Bd. 55, S. 270. ***Champion,** P., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1872, Bd. 75, S. 1578. ***Charrin** und **Desgrez,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1898, Bd. 116, S. 596. ***Chatin,** A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1890, Bd. 110, S. 435. — (2) Ebenda, 1892, Bd. 114, S. 46. ***Cienkowski,** L., (1) Ueber die Gallertbildungen des Zuckerrübensaftes, Charkow 1878. ***Cohn,** E., (1), Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., Orig., 1903, Bd. 33, S. 688. ***Cohnheim,** O., (1) Chemie der Eiweißkörper, 2. Aufl., Braunschweig 1904. ***Cramer,** C., (1) Vierteljahrsschrift d. Naturforsch. Gesellsch. Zürich, 1858, Bd. 3, S. 1. ***Cramer,** E., (1) Arch. f. Hyg., 1891, Bd. 13, S. 72. — (2) Ebenda, 1892, Bd. 16, S. 151. — (3) Ebenda, 1894, Bd. 20, S. 197. — (4) Ebenda, 1895, Bd. 22, S. 167. — (5) Ebenda, 1896, Bd. 28, S. 1. ***Croß,** C. F., und **Bevan,** E. J., (1) Proceed. Chem. Society, 1901, Bd. 17, S. 22. ***Curtis,** (1) Ann. Pasteur, 1896, Bd. 10, S. 449. ***Dreyfuß,** J., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1893, Bd. 18, S. 358. ***Emmerling,** O., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1899, Bd. 32, S. 542. ***Escombe,** F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1897, Bd. 22, S. 288. ***Faber,** F. C. von, (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1904, Bd. 22, S. 177. ***Ferry,** R., und **Schmidt,** H., (1) Revue Mycologique, 1903, S. 197. ***Fischer,** Alfred, (1) Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl., Jena 1903. ***Fischer,** Emil, und **Leuchs,** H., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1902, Bd. 35, S. 3787, und 1903, Bd. 36, S. 24. ***Flügge,** C., (1) Die Mikroorganismen, 3. Aufl., Leipzig 1896. ***Forssel,** K. B. J., (1) Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. in Wien, Mathemat.-physikal. Klasse, 1886, Bd. 93, S. 219. ***Fränkel,** S., und **Kelly,** A., (1) Monatsh. f. Chem., 1902, Bd. 23, S. 123. ***Fritsch,** K., (1) Beiträge zur chemischen Kenntnis einiger Basidiomyceten, Diss., Erlangen 1889, auch im Arch. d. Pharmacie, 1889, Bd. 27, S. 193. ***Fünfstück,** M., (1) Lichenes, Allgem. Teil, in Engler und Prantl, Die natürl. Pflanzenfamilien, I. Teil, 1.* Abt. ***Gautier,** A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 129, S. 189. ***Gilson,** E., (1) La subérine et les cellules de la liège, Diss., Straßburg, 1890, auch in La Cellule, 1890, Bd. 6, S. 63. — (2) La Cellule, 1893, Bd. 9, S. 397. — (3) Ebenda, 1894, Bd. 11, S. 7. — (4) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 120, S. 1000. ***Guichard,** P., (1) Bull. Soc. Chimique de Paris, 3. série, 1894, Bd. 11, S. 230. ***Hammerschlag,** (1) Correspondenzblatt f. Schweizer Aerzte, 1888, Nr. 19. — (2) Centralbl. f. klinische Medizin, 1891. ***Hansen,** E. Chr., (1) Comptes rendus de Carlsberg, 1894, Bd. 3, S. 182. ***Happ,** C., (1) Bakteriologische und chemische Untersuchungen

über die Gärung, Basel 1893. ***Harlay,** V., (1) Bull. Soc. Mycologique de France, 1895, S. 141. ***Harz,** C. O., (1) Bot. Centralbl., 1885, Bd. 23, S. 371 und 1886, Bd. 25, S. 386. ***Helbing,** C., (1) Deutsche medizin. Wochenschr., 1900, Vereinsbeilage zu Heft 23, S. 132. ***Herzfeld,** (1) Z. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie des ges. Deutschl., 1890, Bd. 40, S. 789. ***Hessenland,** F., (1) Z. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie des ges. Deutschl., 1892, Bd. 42, S. 671. ***Hoffmeister,** W., (1) Landw. Jahrbücher, 1888, Bd. 17, S. 239. ***Hoppe-Seyler,** F., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1894, Bd. 27, S. 3329, und 1895, Bd. 28, S. 82. ***Iwanoff,** K. S., (1) HOFMEISTER's Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., 1902, Bd. 1, S. 524. ***Kappes,** H. C., (1) Analyse der Massenkulturen einiger Spaltpilze und der Soorhefe. Diss., Leipzig 1890. ***Kindermann,** V., (1) Oesterr. Bot. Zeitschr., 1901, Bd. 51, S. 32. ***Kramer,** E., (1) Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. in Wien, math.-phys. Klasse, 1889, Bd. 98, S. 358, und Monatsh. f. Chem., 1889, Bd. 10, S. 467. ***Krawkow,** P., (1) Cit. nach KOCH's Jahresb., 1901, Bd. 12, S. 75. ***Kresling,** K., (1) Arch. sciences biolog., 1892, Bd. 1, S. 711. ***Laer,** H. **van,** (1) Extrait des mémoires couronnées etc. de l'Acad. roy. de Belgique, 1889, Bd. 43, S. 36. ***Lagerheim,** G. **von,** (1) Bihang till K. Svenska Vetenskaps-Acad. Handlingar, 1899, Bd. 25, Afd. III, Nr. 8. ***Langstein,** L., (1) Ergebnisse der Physiologie (hrsgeg. von ASHER und SPIRO), 1902, Bd. 1, 1. Hälfte, S. 63. ***Ledderhose,** G., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1876, Bd. 9, S. 1200. ***Lepierre,** Ch., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1898, Bd. 126, S. 761. ***Liebermann,** L., und **Bittó,** B. **von,** (1) Sitzungsber. d. naturw. Kl. d. Ungar. Akademie, 1894. ***Liesenberg,** C., und **Zopf,** W., (1) ZOPF's Beitr. z. Physiol. u. Morph. nied. Organ., 1892, H. 1, S. 1. ***Lindner,** P., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 537. ***Lintner,** C. J., (1) Handbuch der landwirtschaftl. Gewerbe. ***Mäule,** C., (1) FÜNFSTÜCK's Beitr. z. wissensch. Bot., 1900, Bd. 4, S. 166. ***Malerba,** P., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1891, Bd. 15, S. 539. ***Mangin,** L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1888, Bd. 107, S. 144. — (2) Ebenda, 1890, Bd. 110, S. 644. — (3) Ebenda, 1890, Bd. 111, S. 923. — (4) Journ. de Botanique, 1892, Bd. 6, S. 206. — (5) Ebenda, 1893, Bd. 7, S. 37. — (6) Comptes rend. de l'Ac., 1893, Bd. 117, S. 816. — (7) Bull. Soc. Botan. de France, 1894, Bd. 41, S. 373. — (8) Extrait du Bull. de la Soc. de l'histoire naturelle d'Autun, 1895, Bd. 8, S. 58. — (9) Journ. de Bot., 1899, Bd. 13, S. 209. ***Margewicz,** K., (1) Eßbare Pilze, Diss., Petersburg 1883, Tabelle abgedruckt in JUST's Botan. Jahresber. und bei ZOPF (2, S. 391). ***Marschall,** (1) Arch. f. Hyg., 1897, Bd. 28, S. 16. ***Meißner,** R., (1) Landw. Jahrbücher, 1898, Bd. 27, S. 715. ***Meyer,** Arthur, (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1901, Bd. 19, S. 428. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 29, S. 809. ***Migula,** W., (1) System der Bakterien, 1. Bd., Jena 1897. ***Mohl,** H. **von,** (1) Flora, 1840, Bd. 23, II, S. 609. ***Nägeli,** C. **von,** (1) Sitzgsber. d. Bayr. Akad. d. Wiss., 1863, S. 383. ***Nägeli,** C. **von,** und **Loew,** O., (1) Sitzgsber. d. Bayr. Akad. d. Wiss., 1878, Bd. 8, S. 161; auch in J. f. prakt. Chem., 1878, Bd. 125, S. 403, und LIEBIG's Ann., Bd. 193, S. 322. ***Nettlefold,** F., (1) Chemical News, 1887, Bd. 55, S. 191. ***Nishimura,** T. (1), Arch. f. Hyg., 1893, Bd. 18, S. 318. — (2) Ebenda, 1894, Bd. 21, S. 52. ***Oshima,** K., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1902, Bd. 36, S. 42. ***Petri,** L., (1) Nuovo Giornale Botanico, 1903, Bd. 10, S. 272. ***Richter,** K., (1) Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien, 1881, Bd. 83, 1. Abt., S. 494. ***Ritsert,** Ed., (1) Bericht d. Pharmaceut. Gesellsch., 1891, S. 389. ***Rolland,** L., (1) Bull. Soc. Mycologique, 1887, Bd. 3, S. 134. ***Romegialli,** A., (1) Gazzetta chimica ital., 1886, Bd. 16, S. 73. ***Ruppel,** G., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1898, Bd. 16, S. 218. — (2) Die Proteine, als 4. Heft d. Beiträge z. experiment. Therapie, hrsgg. von BEHRING, Marburg 1900. ***Salkowski,** E., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1889, Bd. 13, S. 506, und Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1889, S. 227. — (2) Arch. d. Anat. u. Phys., 1890, S. 554. — (3) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1894, Bd. 27, S. 497. — (4) Ebenda, S. 925. ***Schaffer,** F., (1) Sitzgsber. d. naturforsch. Gesellsch. zu Bern, 1879, S. 25. ***Schardinger,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 144. ***Scheibler,** C., (1) Zeitschr. d. Vereins f. d. Rübenzuckerindustrie, 1874, Bd. 24, S. 309. ***Schloßberger,** J., und **Doepping,** O., (1) Liebigs Ann., 1844, Bd. 52, S. 106. ***Schmiedeberg,** O., (1) Arch. f. experiment. Patholog. und Pharmakol., 1891, Bd. 28, S. 42. ***Schmieder,** J., (1) Arch. d. Pharmacie, 1886, Bd. 224, S. 641. ***Schröder,** B., (1) Beihefte z. Bot. Centralbl., 1901, Bd. 10, S. 122. ***Schützenberger,** P., (1) Bull. Soc. Chimique Paris, 1874, Bd. 21, S. 204 und Comptes rend. de l'Ac., 1874, Bd. 78, S. 493 u. 698. ***Schulze,** E., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1891, Bd. 24, S. 2277. — (2) Landw. Jahrbücher, 1894, Bd. 23, S. 1. — (3) Chem.-Ztg., 1895, Bd. 19, S. 1465. ***Schulze,** E., und **Castoro,** N., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1902, Bd. 37, S. 40. ***Schweinitz,** E., **de,** und **Dorset,** M., (1) Journ. Americ. Chem. Society, 1895, Bd. 17, S. 605. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 23, S. 993. ***Schweizer,** E., (1) Vierteljahrsschr. der Naturforschenden Gesellsch. in Zürich, 1857, Bd. 2, S. 395. ***Sieber,** N., (1) J. f. prakt. Chem., 1881, Bd. 23, S. 412. ***Spieckermann,** A., und **Brenner,** W., (1) Landw. Jahrbücher, 1902, Bd. 31, S. 81. ***Städeler,** G., Liebigs Ann., 1859, Bd. 111, S. 12. ***Steudel,** H., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1902, Bd. 34, S. 353.

***Strohmer,** F., (1) Z. f. Nahrungsmittel-Unters. etc., 1887, Bd. 1, S. 4. ***Sundwik,** E. E., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1901, Bd. 34, S. 157. ***Tanret,** C., (1) Bull. Soc. chimique de Paris, 1897, 3. sér., Bd. 17, S. 921. — (2) Ebenda, S. 914, und Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 123, S. 96. ***Tieghem,** Ph. **van,** (1) Annales des sciences natur., 1878, 6. sér., Bd. 7, S. 180. ***Tollens,** B., (1) Liebigs Ann., 1895, Bd. 286, S. 292. ***Tromp de Haas,** R. W., (1) Untersuchungen über Pektinstoffe, Diss., Göttingen 1894. ***Uloth,** W., (1) Flora, 1861, Bd. 44, S. 565. ***Villiers,** A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 112, S. 536. ***Vincenzi,** L., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1886, Bd. 11, S. 181. ***Voswinkel,** A., (1) Pharmazeut. Centralhalle, 1891, Neue Folge, Bd. 12, S. 505. — (2) Ebenda, S. 531. ***Ward,** Marshall H. und **Green,** R., (1) Proceed. Roy. Society, 1899, S. 65. ***Wegner,** (1) Zeitschr. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie, 1890, Bd. 40, S. 789. ***Will,** H., (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1897, Bd. 20, S. 447. ***Winterstein,** E., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1893, Bd. 11, S. 441. — (2) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1894, Bd. 27, S. 3113. — (3) Ebenda, 1895, Bd. 28, S. 167. — (4) Z. f. physiolog. Chem., 1894, Bd. 19, S. 52, und 1895, Bd. 20, S. 342. — (5) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1895, Bd. 13, S. 65. — (6) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1895, Bd. 28, S. 774. — (7) Z. f. physiolog. Chem., 1896, Bd. 21, S. 134. — (8) Arch. d. Pharmacie, 1896, Bd. 233, S. 398. ***Wisselingh,** C. **van,** (1) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 31, S. 619. ***Zander,** E., (1) Pflügers Archiv, 1897, Bd. 66, S. 545. ***Zech,** H., (1) Weitere Beiträge zur chemischen Kenntnis einiger Bestandteile aus Secale cornutum. Diss., Erlangen 1894. ***Zimmermann,** O. E. R., (1) Das Genus Mucor, Chemnitz 1871. ***Zopf,** W., (1) Nova acta Leopoldina, 1878, Bd. 40, H. 7. — (2) Die Pilze, Breslau 1890.

(Manuskript-Einlauf: 9. Juli 1904.)

12. Kapitel.

Chemie des Zellinhaltes.

§ 61. Allgemeines über die Proteine der Schizomyceten und der Eumyceten.

Unter den Stoffen des Zellinhaltes stellen wir allen anderen die Proteine oder Eiweißkörper im allgemeinen voran; denn in ihnen haben wir nach aller Wahrscheinlichkeit die eigentlichen Träger aller Lebenserscheinungen und aller wesentlichen Stoffwechselvorgänge und die Muttersubstanzen aller in den Lebewesen vorkommenden Verbindungen zu sehen.

Wenn Reinke (1) aus der Tatsache, daß das von ihm und Rodewald chemisch analysierte Plasmodium eines Schleimpilzes, der sog. Lohblüte (*Aethalium septicum*), neben Eiweißkörpern auch beträchtliche Mengen anderer Substanzen enthält, den Schluß zieht, daß auch diese anderen Stoffe ebensogut als Träger des Lebens anzusehen seien wie die Eiweißkörper, so vermißt man doch einigermaßen den Beweis für diese Anschauung; Plasmodium und Protoplasma sind nicht identische Begriffe, und was in dem ersten enthalten ist, braucht darum noch kein wesentlicher Bestandteil des zweiten zu sein. Einige der von diesen zwei Forschern gefundenen Körper, wie Fettsäuren, Cholesterine und Kohlenhydrate, dürften aber selbst zu den Baustoffen der Eiweißkörper gehören. Es ist hier nicht der Ort, die angedeutete Frage, eine Grundfrage der Physiologie, näher zu erörtern. Nur das eine wollen wir bemerken: es kann kein Zufall sein, daß alle physikalischen oder chemischen Agentien, die wesentliche Veränderungen der bekannten Eiweißkörper herbeiführen, auch das Leben vernichten.

Auch das dürfen wir als gesichert hinstellen, daß das lebende Protoplasma aus höheren Einheiten besteht, die sich aus den kompliziertesten

der Eiweißkörper, die bisher analysiert werden konnten, ihrerseits erst aufbauen. Diese höheren Einheiten — VERWORN (1) bezeichnet sie als Biogene — sind so labiler Art, daß man bisher überhaupt nur ihre Bausteine, nicht aber die Konfiguration, in der dieselben zusammenhaften, 5 hat untersuchen können. Ja es fehlt uns zurzeit jede Vorstellung, wie man es machen müsse, die lebende Substanz der Analyse zu unterwerfen, ohne jenen veränderten Zustand derselben herbeizuführen, den wir als Tod bezeichnen.

Als wesentlich muß hier hervorgehoben werden, daß in zweien 10 Punkten physikalisch-chemischer Art ein auffallender **Unterschied zwischen lebendem und totem Protoplasma** besteht. Das ist erstens die Fähigkeit, sich gegen die Aufnahme von allerhand gelösten Substanzen ablehnend zu verhalten, sie gar nicht oder doch nur äußerst langsam eindringen zu lassen, eine Fähigkeit, die nur der lebenden Sub- 15 stanz eigen ist und der getöteten abgeht. Besonders deutlich zeigt sich dieses Moment in der Aufnahme von Farbstoffen in den getöteten Zellleib, die der lebende zurückzuweisen vermag; höchst wahrscheinlich haben wir es hier mit Lösungsvorgängen zu tun, in deren Unterschiedlichkeit die stattgehabte Zustandsänderung zutage tritt. Der zweite 20 Punkt betrifft die Angreifbarkeit für eiweißzersetzende Enzyme, deren Einwirkung lebendes Protoplasma zum mindesten viel langsamer, wenn überhaupt, unterliegt als totes Eiweiß. Ueber letzteren Punkt verdanken wir insbesondere einer Arbeit SIGWART's (1) interessante Aufschlüsse, nach welcher Milzbrandbazillen durch die Verdauungsenzyme Pepsin und 25 Trypsin in ihrer Lebensfähigkeit nicht im mindesten beeinträchtigt werden. Ob wir alle hierher gehörigen Erscheinungen durch die Wirkung von Antienzymen (vgl. § 65) erklären können, ist mindestens fraglich. Ganz besonders bedeutungsvoll ist aber für die Eiweißkörper als Lebensträger der kolloidale Zustand. Es ist, wie bekannt, nicht 30 alles lebend, was kolloid ist, aber für das Wesen der lebenden Substanz ist nach aller unserer Kenntnis jener Zustand die unerläßliche Bedingung; wir kennen kein Leben, dessen Träger ein fester Körper oder eine echte, wäßrige Lösung wäre. Wesentlich ist aber auch die weichflüssige Beschaffenheit; denn in der zur Gerinnung gebrachten, noch 35 immer kolloidalen Substanz ist die Lebenstätigkeit vorübergehend oder dauernd aufgehoben.

Diese kurzen allgemeinen Betrachtungen mußten vorausgeschickt werden, weil die technische Mykologie ja gerade von den Lebenserscheinungen und Lebensvorgängen der Pilze die praktische 40 Nutzanwendung zieht, und weil auch der Praktiker nie vergessen soll, daß es lebende Dinge sind, mit denen er arbeitet. Wir wenden uns nunmehr der näheren Besprechung des Eiweißes der in Rede stehenden Lebewesen zu.

Aeltere Angaben über den **Eiweißgehalt der Pilze und der Bak- 45 terien** sind größtenteils nur quantitativer Art, zugleich nur unter der Voraussetzung gültig, daß aller gefundene Stickstoff Eiweißstickstoff sei. Man multiplizierte den ermittelten Prozentgehalt an Stickstoff mit 6,25 und glaubte damit den Eiweißgehalt festgestellt zu haben. Da, wie wir im vorigen Paragraphen gesehen haben, auch die Zellhäute stets oder 50 doch in der ganz überwiegenden Mehrzahl der Fälle Stickstoff enthalten, so sind die auf obige Weise berechneten Zahlen bedeutend zu hoch gegriffen. So erklären sich wohl die abnorm hohen Eiweißzahlen — bei ZOPF (2) zusammengestellt —, die man oft für Pilze angegeben findet,

häufig über 30 und 40 Proz., ja bei *Lycoperdon Bovista* über 50 Proz. des Trockengewichtes. MÖRNER (1) berechnet für einige Hutpilze ca. 26 Proz. des Stickstoffs als zu nicht-eiweißartigen Verbindungen gehörig; diese Zahl gibt einen ungefähren Anhalt dafür, um wieviel wir die angeführten Ergebnisse zu reduzieren haben. STROHMER (1), der, ohne Kenntnis des Stickstoffgehaltes der Membran, es doch mit der Analyse genauer nahm, gibt für den Steinpilz 23,11 Proz. Eiweiß vom Trockengewicht an, während andere Angaben weit höher lauten. SIEBER (1) fand für verschiedene Schimmelpilze 28,9—29,9 Proz. Eiweiß. NÄGELI und LOEW (1) geben für die Hefe 45 Proz. Albuminstoffe und 2 Proz. Peptone an. Nach STUTZER (1) entfallen von dem (7,776 Proz. ausmachenden) Stickstoffgehalt der Hefe 5,519 Proz. auf Proteine und 2,257 Proz. auf Nucleine; die Mengen dieser Stoffe standen also im Verhältnis von 71 : 29. Uebrigens scheint gerade der Eiweißgehalt der Hefe keineswegs zu allen Zeiten der gleiche zu sein. WIJSMAN (1) kam durch eine Reihe von Analysen, die zu verschiedenen Zeiten des Gärprozesses ausgeführt worden waren, zu der Ueberzeugung, daß der Stickstoffgehalt der Hefe keinen konstanten Wert hat, sondern großen, ziemlich regelmäßigen Schwankungen unterworfen ist. Nach dem Einbringen in die Gärflüssigkeit findet zuerst eine rasche Steigerung des Stickstoffgehaltes statt, die sich wahrscheinlich durch die Anhäufung stickstoffhaltiger Nährstoffe vor der Entfaltung der größten Vermehrungsintensität erklärt; im späteren Verlauf des Gärprozesses erfolgt eine allmähliche Abnahme. Er stieg (auf Trockensubstanz bezogen) von dem Anfangswert von 7,09 Proz. nach einer Stunde auf 9,90, nach zwei Stunden betrug er 9,60, nach drei Stunden 9,55, nach zehn Stunden nur noch 6,40 Proz. Ganz ähnliches fand VINCENZI (1) für *Bacillus subtilis*, nur waren die Unterschiede in den sechs untersuchten Zuchten noch größer, die Stickstoffzahlen schwankten zwischen 5,34 und 11,15, also um mehr als 1 : 2! Wenn LYONS (1) für seine drei Kapselbazillen ein Sinken des Eiweißgehaltes auf zuckerreichem Nährboden beobachtete, so erklärt sich das wohl ungezwungen durch Ansammlung stickstofffreien Reservematerials; tatsächlich verzeichnet dieser Forscher auch eine Verdoppelung des Alkohol- und des Aetherextraktes.

Die älteste Bakterienanalyse stammt wohl (aus dem Jahre 1879) von NENCKI und SCHAFFER (1). Diese stellten aus Fäulnisbakterien im Gemisch eine Eiweißsubstanz dar, die sie als Mykoprotein bezeichneten. Diese Substanz machte fast die Hälfte (40—50 Proz.) vom Trockengewicht der Bakterienleiber aus, die sich als ungewöhnlich eiweißreich erwiesen hatten; denn die genannten Forscher fanden 85,76 Proz. Eiweiß in der Trockensubstanz der reinen „Zooglöa" (s. S. 51), 87,46 Proz. in der Zooglöa mit entwickelten Bakterien, 84,20 Proz. in den „reifen" Bakterien. Das Mykoprotein enthielt 52,32 Proz. Kohlenstoff, 7,55 Proz. Wasserstoff, 14,75 Proz. Stickstoff, keinen Schwefel und keinen Phosphor; es war durch Alkohol nicht fällbar, war sowohl in Wasser wie in Säuren und Alkalien löslich und gab die MILLON'sche und die Biuret-Reaktion. Durch Schmelzen mit Aetzkali wurden Phenol, Indol, Skatol, Leucin und Valeriansäure nebst anderen Fettsäuren erhalten. Jedenfalls war das Mykoprotein selbst schon das Produkt einer sehr weitgehenden Spaltung, aber wohl kaum ein wirklich einheitlicher Körper.

BRIEGER (1) untersuchte vier Wochen alte Zuchten des Pneumoniebazillus und fand 9,75 Proz. Stickstoff, bezogen auf fett- und aschenfreie Substanz, d. i. = 6,70 Proz. Stickstoff vom Trockengewicht, also weit weniger als NENCKI's Analyse ergeben hatte. Auch er stellte aus den

Bazillen einen Eiweißkörper dar, der sich jedoch mit dem Mykoprotein nicht identifizieren ließ, denn er hatte Proteincharakter, war in Wasser nur unvollkommen löslich und wurde durch Siedehitze, durch Ferrocyankalium und durch Gerbsäure ausgefällt. HAMMERSCHLAG (2) gibt für Tuberkelbazillen 51,62 Proz. Kohlenstoff, 8,07 Proz. Wasserstoff und 9,09 Proz. Stickstoff an. DZIERZGOWSKI und REKOWSKI (1) fanden für Diphtheriebazillen 48,87 Proz. Kohlenstoff, 8,61 Proz. Wasserstoff und 11,17 Proz. Stickstoff. Weil diese Zahlen sich auf die Bakterienleiber überhaupt beziehen, geben sie für den Gehalt an Eiweiß und dessen sonstige Eigenschaften natürlich keinen Anhalt. Im letztgenannten Falle wurde ein Eiweißgehalt von 63,40 Proz. berechnet. MARSCHALL (1) betont, daß im Eiweißgehalt die Bakterien den Schimmelpilzen, diese den höheren Pilzen vorangehen. Sehr gering scheint jedoch der Eiweißgehalt der Essigsäurebakterien zu sein, welchen ROMEGIALLI (1) nur zu 13,9 Proz. berechnet.

Praktische Bedeutung kommt den Eiweißverbindungen der Pilze in Hinblick auf ihre Verwertung für die menschliche Ernährung zu. Ueber die Verarbeitung der eiweißreichen Hefen zu Nährpräparaten, Ersatz für Fleischextrakt u. dgl. wird im 5. Kapitel des V. Bandes ausführlich berichtet werden. Hier, in diesem Paragraphen, sollen einige Bemerkungen über den **Nährwert der höheren Pilze** Platz finden. Dieser ist oft sowohl überschätzt als auch unterschätzt worden. Daß Pilze einen hohen Wassergehalt haben, wurde bereits erwähnt, ebenso, daß nur ein Teil (allerdings der größere) ihres Stickstoffs in Gestalt von Eiweißstoffen vorliegt. Die chitinhaltigen Zellhäute sind absolut unverdaulich, und auch die eigentlichen Eiweißverbindungen werden nicht vollständig verdaut. Von MÖRNER (1) liegen Untersuchungen über siebzehn Arten von meist eßbaren Pilzen vor, deren Gesamteiweiß im Mittel nur 15,7 Proz. vom Trockengewicht ausmachte, wovon 8,7 verdaulich, 7,0 unverdaulich waren. Doch sind hierin nicht alle Arten gleich. Champignon und Steinpilz enthalten dreimal soviel verdauliches Eiweiß als unverdauliches, Kapuziner- und Parasolpilz (*Lepiota procera*) doppelt soviel. Bei anderen Arten stellt sich das Verhältnis ungünstiger; beim Pfifferling z. B. ist nur etwa ein Drittel des vorhandenen Eiweißes verdaulich. Um ein Hühnerei zu ersetzen, braucht man nach MÖRNER: vom Champignon 0,28 kg Frischgewicht, vom Blutreizker (*Lactarius deliciosus*) 0,75 kg, vom Pfifferling 1,30 kg. Einem Kilogramm Rindfleisch entsprechen von den drei Pilzarten je 9,3—24,2—41,6 kg. Nach PIZZI (1) ist von *Morchella esculenta* nur etwa der zehnte Teil, von Trüffelarten rund die Hälfte des reinen Proteins verdaulich. Demgegenüber sollte aber nicht vergessen werden, daß die Pilze nicht mehr kosten als die Mühe des Einsammelns, daß die besseren Arten gut bezahlt werden, zumal sie sich sehr wohl zur Konservierung eignen, und daß, wie es mit dem Champignon bereits geschieht, sich vielleicht noch andere geschätzte Speisepilze würden im großen künstlich züchten lassen.

In die ungeheure Mannigfaltigkeit der Eiweißkörper haben erst die Forschungen der neuesten Zeit einigermaßen Licht und damit System zu bringen vermocht. Es liegen aber aus dieser Zeit erst recht wenige Untersuchungen über die Eiweißstoffe der Pilze vor, so daß eine strenge, den Grundsätzen der modernen Chemie entsprechende Einteilung kaum möglich ist. Genauere Bearbeitung in dieser Hinsicht haben (außer der Hefe) fast nur einige pathogene Bakterien gefunden, welche aber den

Zielen unseres Handbuches ferne stehen und deshalb hier nur gestreift werden können.

In Kürze sei hier der bereits erwähnten Analyse der Lohblüte von REINKE und RODEWALD (1), aus dem Jahre 1880, gedacht, obzwar der Organismus nicht eigentlich den Pilzen zugezählt werden kann, sondern 5 zu den sog. Schleimpilzen (Myxomyceten) gehört, welche sehr wesentliche Beziehungen zum Tierreich haben, und also, wenn wir sie auch an das Ende des Pflanzenreichs stellen, doch den eigentlichen Pilzen, besonders auch den Spaltpilzen, recht ferne stehen. Die genannten Forscher fanden, als Hauptmasse der Eiweißkörper jenes Wesens, „Plastin", eine unlös- 10 liche, den tierischen Fibrinen ähnliche Substanz, ferner Vitellin, Myosin und Nuclein. Von weiteren Spaltungsprodukten wurden nachgewiesen: Pepton, Peptonoid, Guanin, Sarkin, Xanthin, ferner Lecithin, Cholesterin, Paracholesterin, höhere Fettsäuren, deren Glyceride und Calciumsalze u. a. m. Die Eiweißkörper betrugen nicht ganz 30 Proz. der Trocken- 15 substanz, die aber zu 27,7 Proz. aus Calciumkarbonat bestand.

§ 62. Verbindungen des Nucleins.

Wenn wir die Einzelbesprechung der Eiweißkörper bei den Nucleinverbindungen beginnen, so geschieht es wegen der vorwiegenden Bedeutung dieser Stoffe für die Lebenserscheinungen. Wir wissen, daß der 20 Zellkern (Nucleus) ganz wesentlich aus solchen Verbindungen sich aufbaut, und es ist über allen Zweifel erhaben, daß eben dieser Zellkern das Haupt- und Zentralorgan der Zelle ist, das bei allen Zellteilungen, bei der Befruchtung wie auch bei der Membranbildung aktiv beteiligt und mit größter Wahrscheinlichkeit auch als der Träger der Vererbung 25 anzusehen ist.

Die wichtigsten Verbindungen des Nucleins sind die Nucleoproteide, die aus einem Eiweißkörper und dem Nuclein zusammengesetzt sind, welch letzteres aus der Nucleinsäure (s. weiter unten) und einem eiweißartigen Rest besteht; Näheres darüber bei COHNHEIM (2, S. 197 u. ff.). 30 Die spezifische Konstitution der Pilznucleine ist bisher nur an dem der Hefe erforscht; wir kommen darauf noch zurück.

Wie der § 16 dieses Bandes dargelegt hat, ist die Frage, ob den Spaltpilzen ein Zellkern zukomme, sehr strittig; auch die entschieden positiven Angaben beziehen sich nur auf bestimmte Arten und bestimmte 35 Entwicklungszustände. Um so sicherer ist es festgestellt, daß Nucleinverbindungen den Bakterien keineswegs fehlen. Makrochemisch ist Bakteriennuclein zuerst im Jahre 1884 von VANDEVELDE (1) im *Bac. subtilis* und von NENCKI (1) im *Bac. anthracis* nachgewiesen worden; des letzteren „Anthraxprotein", welches in Alkali löslich ist, durch Säure aus- 40 fällt, keinen Schwefel enthält, aber die Biuret-Reaktion gibt, ist wohl als Nucleinverbindung aufzufassen.[1]) In neuerer Zeit war es dann namentlich der Tuberkelbazillus, dem eingehendere Untersuchungen gewidmet wurden. E. KLEBS (1) behandelte entfettete Bazillen mit Pepsin und erhielt aus dem unverdauten Rückstand durch wiederholtes Ausfällen 45 mit Alkohol ein ziemlich reines, ca. 8—9 Proz. Phosphor enthaltendes Nuclein, welches keine immunisierenden Eigenschaften besaß. RUPPEL (1) gelang es, aus Tuberkelbazillen nach einem auf S. 253 angegebenen Ver-

[1]) Ueber den mikrochemischen Nachweis von Nuclein siehe S. 251. 50

fahren eine Nucleinsäure von 9,42 Proz. Phosphorgehalt darzustellen, die zum Teil frei im wäßrigen Auszug der zerriebenen Zellen enthalten ist; diese Säure bezeichnet der genannte Forscher als Tuberkulinsäure und schreibt ihr die spezifische Giftwirkung zu. Die zerriebenen und 5 entfetteten Tuberkelbazillen geben an Wasser fast die Hälfte ihrer Substanz ab; in der Lösung ist neben einem durch Essigsäure fällbaren Nucleoprotamin die durch Essigsäure nicht ausfällbare Tuberkulinsäure enthalten. Letztere gibt bei der Spaltung durch längeres Erhitzen viel Guanin, wenig Xanthin und Adenin, dazu eine Thyminsäure, welche nach 10 KITAJIMA (1) besonders der Träger der toxischen Eigenschaft sein soll. DE SCHWEINITZ und DORSET (2) geben der Tuberkulinsäure die Formel $C_7H_{10}O_4$ (also ohne Stickstoff) und erklären sie als mit der Teraconsäure isomer. Im ganzen enthielten 100 g scharf getrocknete Bazillen 8,5 g Tuberkulinsäure, 24,5 g Nucleoprotamin, 23 g Nucleoproteid, 8,3 g Pro- 15 teinoid, 26,5 g Fett und Wachs, 9,2 g Asche. Das früher von WEYL (1) beschriebene Toxomucin der Tuberkelbazillen ist nach RUPPEL ein kompliziertes Gemisch, das auch Nucleoproteide neben schleimigen Substanzen enthält, welch letztere zum Teil gar keine Proteinreaktion geben, mittels Säurehydrolyse aber ein Kohlenhydrat abspalten lassen. In dem aus 20 Tuberkelbazillen und dem aus unbestimmten Fäulnisbakterien gewonnenen Nucleoproteid wies BENDIX (1) Pentose nach, die von den Fäulniserregern auch dann gebildet wird, wenn die Zucht in einem von Pentosen und Nuclein freien Nährboden heranwächst. Ganz andere Ergebnisse als mit Tuberkel- erhielt RUPPEL (2) mit Rotzbazillen. Diese geben an 25 Wasser nach 24 Stunden nur 20—25 Proz. ihres Gewichtes ab, die Lösung zeigte Biuret- und MILLON'sche Reaktion und lieferte mit Essigsäure einen Niederschlag. Im Filtrat ist (vgl. oben) keine Nucleinsäure enthalten. Der in Alkali lösliche Niederschlag enthält zwar Phosphorsäure, gibt aber keinen reduzierenden Zucker und mit Ammoniak und Silber- 30 nitrat keine Fällung, dürfte also keine Nucleinbasen enthalten. RUPPEL stellt die fragliche Substanz in die Klasse der „Paranucleoproteide". Schon früher aber hatte KRESLING (1) in Rotzbazillen Xanthin und Guanin nachgewiesen. Aus einem dem *Bacillus ranicida* ERNST nahestehenden Spaltpilz stellte GALEOTTI (2) eine in Alkali lösliche, durch 35 Säuren, Salze der Schwermetalle, Tannin, Magnesium- und Ammoniumsulfat fällbare Substanz dar, welche MILLON'sche und Xanthoprotein-, aber keine Biuret-Reaktion gab; als Rest der Pepsinverdauung verblieb ein stark toxischer, rasch blutgerinnender Körper vom Charakter eines Nucleoproteids mit 12,00—12,15 Proz. Stickstoff und 0,94—1,83 Proz. 40 Phosphor. Aus Typhusbazillen isolierte PALADINO-BLANDINI (1) ein Nuclein und ein Nucleoalbumin, die er als Träger der Krankheitserregung anspricht. Einen wasserlöslichen, phosphorhaltigen Körper mit 11,45 Proz. Stickstoff gewannen HUGOUNENQ und ERAUD (1) aus dem *Micrococcus Neisseri*. Nachdem schon GAMALEIA (2) das Diphtheriegift für eine 45 Nuclein-Eiweiß-Verbindung erklärt hatte, erhielt ARONSON (1) aus Diphtheriebazillen durch Behandeln mit verdünnter Lauge bei Temperaturen bis zu 130° ein Nucleoproteide enthaltendes Präparat, das bei der Spaltung vermittels heißer Salzsäure Xanthinbasen und Pentosen abgab. RUPPEL (2) wies in der in Nährbouillon angelegten Zucht von Tetanus- 50 bazillen ein vermutlich aus abgestorbenen Zellen stammendes Nucleoprotamin nach. Auch NISHIMURA (1) konnte aus seinem „Wasserbazillus" die Basen Xanthin, Guanin und Adenin darstellen. Nucleincharakter scheint auch nach GAMALEIA (1) und PFEIFFER (1) das Choleragift

zu besitzen. Zufolge letzterem Forscher steht es in sehr enger Beziehung zu den Bakterienleibern, kann aber noch, ähnlich vielen Enzymen (vgl. § 65), wirkungsfähig bleiben, wenn die Zellen selbst schon getötet sind; durch Alkohol, konzentrierte Neutralsalzlösungen und durch Siedehitze wird es zersetzt, doch bleibt eine verringerte Fähigkeit zur Giftwirkung 5 zurück. Auch aus dem *Bacillus coli* wurden durch CAREGA (1) zwei als Nuclein und Nucleoalbumin bezeichnete Substanzen abgeschieden, beide von stark toxischen Eigenschaften; die Dosis letalis betrug 0,02 bzw. 0,06 g auf 1 kg Tiergewicht.

Substanzen von Nucleoproteincharakter hat dann auch IWANOFF (1) 10 aus einigen Bakterien und Pilzen durch Extraktion mittels Kupferacetatlösung dargestellt. Diese enthielten:

	Stickstoff	Phosphor	Schwefel
Bacillus megaterium	16,32	1,85	2,10
„ *anthracis*	16,00—16,27	2,16—2,25	1,95
„ *pyocyaneus* (n. KRAWKOW)	16,50	2,11	1,00
Aspergillus niger I	15,66—15,74	0,84	1,12—1,21
„ „ *II*	15,19	0,99	1,23
Boletus edulis, Fruchtkörper,	15,64—15,84	1,08	2,14
Claviceps purpurea, Sklerotien	16,02—16,23	0,75	1,77

Von allen Pilzen sind die Hefen weitaus am genauesten auf ihre Inhaltsstoffe untersucht. Nachdem ein bis dahin unbekannter, stickstoff- und phosphorhaltiger Körper von MIESCHER (1) in Eiterzellen entdeckt 15 und „Nuclein“ benannt worden war, fand HOPPE-SEYLER (1) eine ganz ähnliche Substanz im Jahre 1879 in der Bierhefe, und KOSSEL (1) stellte zuerst aus Preßhefe größere Mengen ziemlich reinen Nucleins dar. Die Hefe wurde, zu einem Brei angerührt, mehrere Stunden unter öfters erneuertem Wasser stehen gelassen. Dann wurde die Masse in sehr 20 schwache Natronlauge gebracht, welche das Nuclein herauslöst, es aber auch langsam zersetzt. Um das zu vermeiden, wird das Gemenge sofort auf mehrere Filter verteilt und das Filtrat in verdünnte Salzsäure getropft, wodurch das in der Lauge gelöste Nuclein wieder ausfällt. Die Niederschläge werden auf einem Filter vereinigt, mit verdünnter Salz- 25 säure und Alkohol gewaschen und wiederholt mit Alkohol ausgekocht; in dem Rückstande erhält man ein im Vacuum zu trocknendes, weißes Präparat von ziemlich großer Reinheit. Durch siedendes Wasser vermochte man, es in einen phosphorfreien Niederschlag, eine sauer reagierende Lösung und einen flüchtigen Körper zu spalten. 30

Aehnliche Stoffe sind dann vielfach aus tierischen und pflanzlichen Substanzen dargestellt und mit dem Sammelnamen **Nucleine** bezeichnet worden. Um die Erforschung ihrer chemischen Konstitution, insbesondere der des Hefennucleins, haben sich vor allen A. KOSSEL und seine Schule verdient gemacht. Bald zeigte es sich denn auch, daß man, unter ein- 35 seitiger Hervorhebung des Phosphorgehaltes, recht verschiedenartige Körper als Nucleine zusammengeworfen hatte. Eine Reihe von Substanzen, die von KOSSEL (7) als Paranucleine, von HAMMARSTEN (1) als Pseudonucleine, später meist als Nucleoalbumine bezeichnet wurden, stehen, wie u. a. NEUMANN (1) hervorgehoben hat, den echten Nucleinverbindungen 40 recht fern; sie haben mit dem Zellkern nichts zu schaffen, enthalten keine Xanthinbasen (vgl. unten), keine Nucleinsäure, spalten keine Kohlenhydratgruppe ab, verhalten sich bei der Pepsinverdauung (Näheres darüber bei COHNHEIM [2, S. 172]) wesentlich anders als jene, und haben schließ-

lich außer dem Phosphorgehalt wenig mit jenen gemein. Die Gruppe, für welche Cohnheim den Namen Phosphoglobuline vorschlägt, umfaßt Körper von ausgesprochen saurer, lackmusrötender Eigenschaft. Bei der Säurehydrolyse zerfallen sie nur in Phosphorsäure und einfachere Eiweißkörper. Von wichtigeren Vertretern dieser Gruppe seien die Caseine und die Phytoglobuline genannt, welch letztere oft in wohlausgebildeten Proteinkristallen (s. S. 155 u. 156) in Pflanzenzellen auftreten. Ueber deren Vorkommen in Pilzzellen siehe auch die Arbeiten von van Bambeke (1, 2).

Die **echten Nucleinverbindungen** enthalten im Gegensatz zu den genannten auch Atomkomplexe von basischer Natur, in welche sie bei der Säurebehandlung getrennt werden können. Der erste wesentliche Schritt zur Aufklärung war die Entdeckung Altmann's (1), daß die Nucleoproteide durch die Einwirkung verdünnter Alkalien in Eiweißkörper und eine stickstoffhaltige, phosphorreiche Säure gespalten werden, welche den Namen **Nucleinsäure** erhielt. Diese ist ein typischer Bestandteil aller Nucleinverbindungen und führt, je nach der Herkunft des betreffenden Nucleins, ihre besondere Bezeichnung; denn der Name „Nucleinsäure“ bezeichnet kein chemisches Individuum, sondern eine ganze Gruppe von solchen, die unter sich recht große Verschiedenheiten zeigen können, je nachdem die verschiedenen Komplexe fehlen oder in größerer oder geringerer Zahl an dem Aufbau teilnehmen. Sehr regelmäßig enthalten die Nucleinsäuren dreimal so viel Stickstoff- als Phosphoratome; ausgenommen sind die von Hammarsten aus Ochsenpankreas gewonnene und von Bang (1) näher untersuchte Guanylsäure und die von Th. B. Osborne und Campbell (1) aus dem Weizenembryo dargestellte Nucleinsäure, bei welchen das Verhältnis P : N sich auf 1 : 5 bzw. 1 : 4 stellt.

Der zuerst von Altmann erhaltenen **Hefennucleinsäure** kommt nach Kossel (7) die Zusammensetzung $C_{17}H_{26}N_6P_2O_{14}$ oder vielleicht $C_{25}H_{36}N_9P_3O_{22}$ zu. Herlant (1) gibt ihr die Formel $C_{36}H_{48}N_{14}O_{30}P_4$. Miescher und Schmiedeberg (1) fanden dafür: $C_{40}H_{54}(OH)_5N_{14}O_{27}P_4$. Durch Einwirkung von Alkalien wird sie zufolge Kossel (8) in Kohlenhydrate und eine an Phosphor und Stickstoff reiche Säure, die Plasminsäure, zerlegt. Kossel schrieb dieser letzteren die Formel $C_{15}H_{28}N_6P_6O_{30}$ zu. Später entdeckte Ascoli (1), daß die Plasminsäure ca. 1 Proz. maskiertes Eisen enthält, welches wahrscheinlich unmittelbar mit dem Phosphor verbunden ist. Die Plasminsäure der Hefe kann noch weiteres Eisen in einer Weise sich angliedern, daß es den üblichen Reaktionen nicht zugänglich ist. Dieses Verhalten gegenüber dem Eisen deutet wohl auf Anwesenheit der Metaphosphorsäure, deren Baryumsalz aus der Hefennucleinsäure darzustellen, Liebermann (1) gelang. Die Plasminsäure ist schwefelfrei, und gibt nicht Millon'sche und Biuret-Reaktion. Mittelst verdünnter siedender Mineralsäure spalten sich aus ihr Nucleinbasen, Kohlenhydrate, Phosphorsäure und eine noch nicht näher untersuchte tickstoffhaltige Substanz ab. Ihren Phosphorgehalt fand Ascoli (1) zu nd 20 Proz., in manchen Präparaten bis zu 27 Proz.

Auf ein für die Darstellung der Hefennucleinsäure im großen bemtes Reinigungsverfahren hat Schwickerath (1) ein Patent gemen; man beachte auch das den Elberfelder Farbenfabriken erteilte Patent 107734.

ie Kohlenhydrate, welche bei der Säurehydrolyse aus der Hefennsäure sich abspalten lassen, reduzieren Fehling'sche Lösung und nach Kossel (8) ein Gemisch von Glucose (nicht Galactose) mit

einer Pentose. LIEBERMANN und BITTÓ (1) hatten sie für eine dem Nuclein anhaftende Beimengung nach Art des Hefengummis (vgl. S. 232) erklärt, da reine Nucleinsäure keine Kohlenhydrate mehr abspalte; von KOSSEL und NEUMANN (2), HAMMARSTEN (1) u. a. sind jedoch solche Kohlenhydrate aus verschiedenen Nucleinen tierischer Herkunft abge- 5 schieden worden, so daß an ihrer Zugehörigkeit zum Nucleinkomplex wohl nicht mehr gezweifelt werden kann. In betreff dieser Zuckerarten gibt LEVENE (1) an, daß in verschiedenen tierischen Nucleinsäuren, wie auch in denen der Hefen und der Tuberkelbazillen, eine Furfurol liefernde Gruppe enthalten ist. Lävulinsäure konnte dieser Forscher 10 jedoch nicht erhalten; danach wären also vielleicht nur Pentosen und nicht Hexosen vorhanden.

Von den **Nucleinbasen,** die mittelst der Säurehydrolyse aus Nucleinen, aus der Nucleinsäure, bzw. aus der Plasminsäure, dargestellt werden können, ist als erstes das Hypoxanthin ($C_5H_5N_4O$) gefunden worden, 15 und zwar im Jahre 1879 von KOSSEL (1) im Hefennuclein; zwei Jahre darauf gewann er (2) nach einem später durch ihn (4) noch verbesserten Verfahren 10 g von dieser Base unmittelbar aus Preßhefe und zeigte (3), daß sie auch in Nucleinen tierischer Herkunft enthalten ist. Inzwischen hatte er (1) aus dem Hefennuclein eine zweite Base, das Xanthin 20 ($C_5H_4N_4O_2$) abgeschieden, welcher er (4) im Jahre 1882 eine dritte, das Guanin ($C_5H_5N_5O$), anreihte; der letzteren Vorkommen in der Hefe wurde später durch SCHINDLER (1) bestätigt. Alle drei genannten Körper, Verwandte der Harnsäure ($C_5H_5N_5O_3$), waren bereits der Chemie bekannt, freilich nicht als Bausteine der Nucleine; die vier noch folgenden waren 25 jedoch gänzlich neue und im Nucleinkomplex zuerst aufgefundene Körper. Das Adenin ($C_5H_5N_5$) wurde durch KOSSEL (6) zuerst aus dem Rinderpankreas und dann auch aus Preßhefe gewonnen; es steht zum Hypoxanthin in einer ähnlichen Beziehung wie das Guanin zum Xanthin, nicht nur hinsichtlich der chemischen Konstitution, sondern auch in seinem 30 Verhalten bei der Zersetzung durch gewisse Fäulnisbakterien, welche nach SCHINDLER (1) das Guanin zu Xanthin und das Adenin zu Hypoxanthin abbauen. KOSSEL und NEUMANN (1) entdeckten 1893 eine zweite neue Base, das Thymin, in der aus der Thymusdrüse des Kalbes gewonnenen Nucleinsäure, welche, weil auch Adenin abspaltend, als Adenyl- 35 säure bezeichnet worden war. Das Thymin, von der empirischen Formel $C_5H_6N_2O_2$, wird von STEUDEL (1) als Methyldioxypyrimidin, von E. FISCHER und ROEDER (1), denen auch die synthetische Darstellung gelang, als 5-Methyluracil aufgefaßt. Die Angabe von KOSSEL und NEUMANN (2), daß auch die Hefennucleinsäure Thymin enthalte, hat sich 40 nicht bestätigt; dessen Muttersubstanz jedoch, das Uracil ($C_4H_4N_2O_2$), wurde von ASCOLI (3) in der Hefennucleinsäure entdeckt. Die vierte der neuen Basen, das Cytosin ($C_{21}H_{30}N_{16}O_4 \cdot 5H_2O$ im kristallisierten Zustande) ist erst in neuester Zeit von LEVENE (2) auch im Hefennuclein nachgewiesen worden. Dieser Forscher erhielt durch Behandeln 45 von 150 g Nucleinsäure mittelst 25-proz. Schwefelsäure bei 175° Cytosin, von dem 7 g in Gestalt des Pikrates gewonnen wurden, und 5 g Uracil, aber kein Thymin. Aus Pankreasnucleinsäure konnte er 6 g Cytosinpikrat, 1 g Uracil, 5 g Thymin darstellen; dieses letztere ist bisher nur in Nucleinen tierischen Ursprungs gefunden worden. Die Purinbasen 50 (Xanthin, Hypoxanthin, Guanin, Adenin) sind in der Nucleinsäure ziemlich locker gebunden. KOSSEL und NEUMANN (3) konnten sie durch 10 Minuten langes Kochen mit Wasser vollständig abspalten. Durch

Eintragen in Wasser von 60° vermochte NEUMANN (2) sie teilweise abzuscheiden. Die Art ihrer Bindung ist nach TH. B. OSBORNE und HARRIS (1) und nach BURIAN (1) wahrscheinlich die, daß sie mittelst einer Stickstoffphosphorbindung an den zentralen Kern gekettet sind.

Sehen wir von dem noch nicht genauer bekannten Cytosin ab, so lassen sich die übrigen sechs Nucleinbasen in zwei Gruppen sondern. Adenin, Guanin, Hypoxanthin und Xanthin leiten sich von dem durch EMIL FISCHER (5) als Purin bezeichneten Kerne ab:

```
   N=C·H
   |  |
 H·C  C—N·H      = C5N4N4
   ‖  ‖  \          Pur.
   N—C—N//C·H.
```

```
H·N—C:O        H·N—C:O         H·N—C:O          N=C·NH2
  |  |           |  |            |  |            |  |
O:C  C—N·H     H·C  C—N·H    NH2·C  C—N·H      H·C  C—N·H
  |  ‖  \        ‖  ‖  \         ‖  ‖  \         ‖  ‖  \
H·N—C—N//C·H.    N  C—N//C·H.    N—C—N//C·H.     N—C—N//C·H.
```

Xanthin	Hypoxanthin	Guanin	Adenin
$C_5H_4N_4O_2$	$C_5H_4N_4O$	$C_5H_5N_5O$	$C_5H_5N_5$
2-6-Dioxypurin.	6-Monoxypurin.	2-Amino-6-oxypurin.	6-Aminopurin.

Diese vier gehören also in die Gruppe der Purinbasen. Das Uracil und das Thymin sind hingegen einfacher gebaut:

```
H·N—C:O        H·N—C:O
  |  |           |  |
O:C  C·H       O:C  C·CH3
  |  ‖           |  ‖
H·N—C·H        H·N—C·H
```

Uracil	Thymin
$C_4H_4N_2O_2$.	$C_5H_6N_2O_2$
	5-Methyluracil.

Von diesen sechs Basen scheint das Thymin am verbreitetsten zu sein, namentlich im Tierreich; denn es fehlt außer der Hefennucleinsäure nur wenigen Nucleinen tierischer Herkunft. Unter diesen letzteren scheinen sich solche zu finden, die nur je eine dieser Basen enthalten.

Quantitative Untersuchungen, außer den citierten von LEVENE, hat SCHINDLER (1) auf Grund des von ihm ausgearbeiteten analytischen Trennungsverfahrens mittelst der Silberverbindungen angestellt, und aus 100 g Preßhefe 0,024 g Xanthin, 0,029 g Guanin, 0,093 Hypoxanthin und 0,043 Adenin erhalten. Als genau dürfen wohl solche Analysen kaum angesehen werden, worauf u. a. WULFF (1) hinweist, der selbst eingehende Untersuchungen über diese Körper (durch Ausfällung mittelst Pikrinsäure) angestellt hat. SCHITTENHELM und SCHROETER (1) versuchten mittelst Spaltung durch Bakterien (*Bac. coli*) die Zusammensetzung der Hefennucleinsäure zu ermitteln. Ihre Ausbeute an Purinbasen war sehr gering; Adenin, Xanthin und Hypoxanthin waren vorhanden, Guanin nicht nachweisbar, vielleicht, weil es sehr rasch weiter verarbeitet wird. Aussichtsreicher ist zweifellos das Verfahren, die Spaltung nicht durch Bakterienzuchten, sondern durch möglichst reine Verdauungsenzyme vollziehen zu lassen. Ueber den quantitativen Nucleingehalt der Hefe und gewisser (nicht bestimmter) Schimmelpilze liegt eine ältere Arbeit von STUTZER (1) vor, nach welcher vom Gesamtstickstoff

in der Bierhefe	10,11% auf Amide u. Peptone,	63,80% auf Albumin,	26,09% auf Nuclein,
i. d. Schimmelpilzen	19,86 „ „ „ „ „	39,39 „ „ „	40,75 „ „ „

entfallen. Der Stickstoff selbst machte im ersten Fall 8,65 Proz., im zweiten 3,78 Proz. der mit starkem Alkohol ausgezogenen und dann über Schwefelsäure getrockneten Masse aus.

Mit den angeführten Untersuchungen ist das reichliche Vorkommen von Nucleinverbindungen in den Zellen der Hefen usw. mit Sicherheit 5 bewiesen, noch nicht aber, daß dieselben auch in engerer Beziehung zum Zellkern stehen, dessen Vorkommen in Bakterienzellen, wie bemerkt, überhaupt eine recht strittige Frage ist. Auf dem Wege der makrochemischen Analyse läßt sich höchstens so viel dartun, daß Gewebe oder Zuchten, deren Zellen viele und große Zellkerne enthalten, stets auch 10 besonders reich an Nuclein sich erweisen. Auf solchem Wege gelangte auch KOSSEL (5) zu dem Schlusse, das Nuclein könne kein indifferenter Reservestoff sein, vielmehr falle ihm überall dort eine tätige Rolle zu, wo Neubildung von Zellen, welcher ja Kernvermehrung stets vorausgeht, stattfindet, also insbesondere bei allen Keimungsvorgängen; Kernbildung 15 und Nucleinmenge halten gleichen Schritt. Daß nun aber das Nuclein tatsächlich die Hauptmasse des Kernes ausmacht, und zwar gerade jener Substanz, die wir nach den Ergebnissen der Forschungen auf dem Gebiete der Cytologie als das Wichtigste am ganzen Nucleus anzusehen haben, das hat erst die **mikrochemische Untersuchung** gezeigt. Für die Zwecke 20 dieser letzteren können verschiedene Methoden dienen. Einerseits ist es die Auflösung (Verdauung) der Eiweißstoffe durch Pepsin, welcher die Nucleinverbindungen nicht unterliegen, andrerseits die Löslichkeit dieser letzteren in schwachen Alkalien, welche zur Entscheidung der einschlägigen Fragen benutzt werden können, weiter die Neigung der 25 Nucleine, Farbstoffe, und zwar bestimmte Arten ganz besonders intensiv, zu speichern. Durch Anwendung künstlichen Magensaftes, d. i. einer Auflösung von Pepsin in 0,2-proz. Salzsäure, hat ZACHARIAS (1) das Nuclein in den Hefenzellen nachgewiesen. In ähnlicher Weise hat F. SCHWARZ (1) mittelst zahlreicher Reagentien (Alkalien, Säuren, Salz- 30 lösungen und Verdauungssäften) pflanzliche Zellen untersucht. Zufolge der von JANSSENS und LEBLANC (1) auf mikrochemischem Wege gewonnenen Ergebnisse enthalten nicht nur die Kerne, sondern auch zerstreute Körnchen der Hefenzellen Nuclein. DREYFUSS (1) hat mit Säuren, Alkalien usw. verschiedene Bakterien behandelt und schließt daraus, daß 35 nur die mit Alkali ausgelaugten Zellen ihre spezifische Färbbarkeit einbüßten, auf Anwesenheit von Nucleinverbindungen.

Sehr vielseitiger Art sind die auf dem Verhalten der Zellbestandteile gegen verschiedene Farbstoffe begründeten Untersuchungsmethoden, worüber man die Zusammenstellungen von A. ZIMMERMANN (1, 2) einsehen 40 wolle. Die vielgebrauchten Ausdrücke c y a n o p h i l und e r y t h r o p h i l sind als mißverständlich aufzugeben, da sie sich nur auf ganz bestimmte Farbstoffgemische und Behandlungsweisen beziehen. Es ist nicht die rote oder blaue Farbe das ausschlaggebende Moment, sondern die chemische (basische oder saure) Reaktion der Zellbestandteile auf der einen und 45 der Farbstoffe auf der anderen Seite, so daß man also jetzt richtiger von a c i d o p h i l e n und b a s e o p h i l e n Substanzen spricht. Es kann somit der gleiche chemische Zellbestandteil aus dem einen Farbstoffgemisch den roten, aus dem anderen den blauen oder grünen Farbstoff an sich ziehen. So färbt sich die Hefennucleinsäure, welche stark baseophil ist, 50 zufolge MALFATTI (1), ZACHARIAS (2) und LILIENFELD (1), in einem Säurefuchsin-Methylgrün (bzw. Methylenblau)-Gemisch grün bzw. blau, hingegen in der Safranin-Lichtgrün-Mischung rot. Nähere Unter-

suchungen über das Verhalten von Bakteriennucleoproteiden gegenüber Anilinfarben verdanken wir GALEOTTI (1). Viel kommt bei der Farbstoffspeicherung auch auf sonstige Behandlung, z. B. die Art des Fixierens und die Art und Dauer des Auswaschens, an. Sogar die Größe der zu 5 färbenden Gebilde kann sehr wesentlich die Färbung beeinflussen. Daß die Ergebnisse der Färbetechnik mit sehr großer Vorsicht aufzufassen seien, darauf hat namentlich A. FISCHER (1) in einem verdienstvollen Werk hingewiesen. Trotz der betonten chemischen Beziehung, die zweifellos vorhanden ist, haben wir indes die Färbung nicht ohne weiteres 10 als eine chemische Verbindung zwischen Eiweißkörper und Farbstoff anzusehen; viele solcher Färbungen dürften sich als Lösungsvorgänge (Verteilung zwischen zwei Lösungsmitteln) erklären, vergleichbar etwa der Ausschüttelung sehr verdünnter Jodlösung mit Chloroform.

Zufolge derartiger Untersuchungen kann nun wohl kaum ein Zweifel 15 daran bestehen, daß die Zellkerne, und speziell die der Hefen, reich an Nuclein sind, und zwar ist es diejenige, die charakteristischen Kernteilungsfiguren bei der Teilung bildende und durch Farbstoffspeicherung ausgezeichnete Substanz, welche die Cytologie als Chromatin bezeichnet, in welcher wir den Sitz des Nucleins zu suchen haben. Da-20 gegen ist es noch fraglich, ob die im § 16 vorliegenden Bandes näher behandelten metachromatischen Körnchen, die insbesondere aus Bakterienzellen bekannt sind, aber durch GUILLIERMOND (1) auch im „Epiplasma" der Ascomyceten, durch BEAUVERIE und GUILLIERMOND (1) im Mycel von *Botrytis*, und noch sonst anderwärts gefunden wurden, zu 25 den Nucleinverbindungen oder aber vielleicht zu den Phosphoglobulinen (vgl. S. 248) oder anderswohin zu stellen sind. Auffallend ist ihre Eigenschaft, sich in Methylenblaulösungen nicht blau sondern rotviolett bis rot zu färben. Ganz neuerdings veröffentlicht A. MEYER (4) Untersuchungen, denen zufolge diese Körnchen in wichtigen Reaktionen mit 30 rein dargestellter Hefennucleinsäure übereinstimmen.

Die von LILIENFELD und MONTI (1) angegebene Methode, speziell den Phosphorgehalt der Zellbestandteile mikrochemisch nachzuweisen, ist hierzu nicht geeignet.

Wie den oben besprochenen, aus Bakterien gewonnenen Nuclein-35 verbindungen in vielen, wenn auch wohl nicht in allen Fällen (vgl. den nächsten Paragraphen) die toxische Eigenschaft der verschiedenen Krankheitserreger zuzuschreiben ist, so hat andrerseits LASCHÉ (1) an Hefennuclein ausgesprochen keimtötende Wirkung beobachtet. Am stärksten wirksam erwies sich ein Präparat aus frischer Frohberghefe. 40 Vielleicht beruht auf dieser Tatsache die Heilwirkung der Bierhefe, die neuerdings mit Erfolg gegen Furunculose und zu anderen Heilzwecken angewandt wird; Näheres darüber im 5. Kapitel des V. Bandes.

Ueber die Natur derjenigen Eiweißkörper, die mit dem Nuclein vereint die höhere Verbindung, das Nucleoproteid, zusammensetzen, wissen 45 wir noch recht wenig. KOSSEL (1) hat das Hefennuclein auch nach dieser Richtung hin untersucht und hat gefunden, daß der aus jenem abspaltbare Eiweißkörper von den Verdauungsenzymen (Pepsin und Trypsin) noch schwieriger angegriffen wird als das Hefennuclein selbst: von diesem wurden binnen 12 Stunden 66 Proz., von jenem unter gleichen Be-50 dingungen nur 3 Proz. in lösliche Produkte übergeführt.

§ 63. Eiweißkörper im engeren Sinne.

Als solche bezeichnen wir jene schwefelhaltigen, meist phosphorfreien oder phosphorarmen, oder aber, wenn phosphorhaltig, doch von den Nucleinen weit verschiedenen Substanzen, welche die üblichen Eiweißreaktionen geben und mit den Nucleinen an der Zusammensetzung der lebenden Substanz und der Körpersäfte wesentlichen Anteil nehmen. Mit sehr wenigen Ausnahmen liegen nähere Untersuchungen nur aus dem Tierreich vor.

Was wir über das Vorkommen solcher Eiweißkörper in den Pilzen wissen, beschränkt sich fast ganz auf einige Substanzen giftiger Natur, die aus pathogenen Spaltpilzen gewonnen worden sind. Seiner chemischen Natur nach ist jener Eiweißkörper, welcher von Hellmich (1) aus einem leider nicht bestimmten Bakterium dargestellt worden war, als zu den *Globulinen* gehörig erkannt worden. Eine genauere Klassifizierung jener übrigen, meist als *Toxalbumine* bezeichneten Stoffe ist zurzeit noch kaum möglich, solange über die Einteilung selbst der besser bekannten Eiweißkörper nichts weniger als Einigkeit herrscht. Selbst über die Zugehörigkeit zu den Eiweißkörpern gehen oft die Meinungen auseinander, und in der Mehrzahl der Fälle sind die eigentlichen Gifte wohl Abbauprodukte, die nicht mehr Eiweißcharakter zeigen, aber mit den Eiweißkörpern sehr innig verbunden und darum schwer von ihnen trennbar sein können. Nähere Angaben darüber findet man in Kürze im 4. Kapitel des III. Bandes, ausführlich aber bei Kolle und Wassermann (1, Bd. I, S. 344 u. f.). Als chemisch genauer bestimmt, erwähnen wir die Körper, welche Ruppel (1) aus dem Filtrat von Zuchten des Tuberkelbazillus darstellte. Es war hauptsächlich eine Deuteroalbumose nachzuweisen, neben wenig Akroalbumose. Aus dem Niederschlag, der aus dem schwach alkalischen Auszug der zerriebenen Bakterien durch Zusatz von Essigsäure sich bildete, wurde durch 1-proz. Schwefelsäure das Sulfat einer Substanz gewonnen, welche die Eigenschaften der Protamine zeigte und *Tuberkulosamin* genannt wurde. Im Rückstand nach der Abscheidung vermittelst Schwefelsäure verblieb die im vorhergehenden Paragraphen erwähnte Tuberkulinsäure.

Genauere, speziell chemische Untersuchungen über die in Pilzen sich findenden, von Nucleinen verschiedenen Eiweißkörper liegen fast nur bezüglich der Bierhefe vor. Die von Nägeli und Loew gewonnenen Ergebnisse wurden schon S. 243 erwähnt. Wróblewski (1) hat im Buchner'schen Preßsaft (s. 17. Kap. d. IV. Bds.) durch partielle Koagulation eine Reihe von Eiweißstoffen, ferner Körper, die er als Globuline anspricht, und von den verbreiteteren Spaltprodukten des Eiweißes Tyrosin, Leucin, Glutaminsäure (Aminobrenzweinsäure, $COOH \cdot C_2H_4 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$) nachgewiesen. Bokorny (1) behandelt Hefe mit Formaldehydwasser, worauf in die Flüssigkeit Peptone, (zufolge Bokorny [3] in 24 Stunden bis zu 2,5 Proz. vom Trockengewicht der Hefe) aber keine Albumine oder Albumosen diffundieren; letztere können nur aus den zertrümmerten Zellen gewonnen werden. Albumin ist zu etwa 3 Proz. in den Hefenzellen vorhanden, deren Gesamtproteingehalt 45—63 Proz. vom Trockengewicht beträgt. Die Albuminmenge fand Bokorny (2) später von 3,5—5,9 Proz. schwankend, bei schlechter Ernährung bald ganz schwindend. Kutscher (1) überließ Hefe der Selbstverdauung (s. 20. Kap. d. IV. Bds.) und wies im Endprodukt Guanin, Adenin, Tyrosin, Ammoniak,

Histidin, Arginin, Lysin und einen noch undefinierten Körper $C_8H_6N_4O_4$ nach. Eine quantitative Untersuchung der wichtigsten Spaltprodukte verdanken wir R. SCHROEDER (1). Er gewann aus Hefe vermittelst des im 17. Kapitel des IV. Bandes anzugebenden, patentierten BUCHNER'schen 5 Verfahrens ein Präparat, welches alle Reaktionen der Eiweißkörper, die Probe auf Schwefel jedoch nur schwach gab und 52,38 Proz. Kohlenstoff, 6,91 Proz. Wasserstoff, 0,72 Proz. Schwefel, 0,06 Proz. Phosphor und nach KJELDAHL 15,80 Proz., nach DUMAS bestimmt 15,92 Proz. Stickstoff aufwies. Die Spaltung mit konzentrierter Salzsäure lieferte, bei einem Ge-10 samtstickstoffgehalt von 11,676 g, 0,710 g = 6,08 Proz. Ammoniakstickstoff, 3,468 g = 29,7 Proz. als Basenstickstoff, durch Phosphorwolframsäure niedergeschlagen, daraus berechnet 8,208 g = 70,30 Proz. als Stickstoff der Aminosäuren. Ein zweiter Versuch ergab 6,58 Proz. Stickstoff für Ammoniak, 29,5 Proz. für Basen, 70,5 Proz. für Amino-15 säuren. Vom Gesamtstickstoff entfielen auf Arginin plus Histidin 11,91 Prozent, auf Lysin 11,03 Proz. Unter den Aminosäuren war Leucin reichlich, Tyrosin und Phenylalanin spärlich vertreten. Ein Teil des Schwefels scheint in cystinähnlicher Bindung vorzuliegen. Zucker und Glycocoll konnten unter den Spaltprodukten nicht gefunden werden. 20 SEDLMAYR (1) hat aus Hefe, die mittelst Alkohol abgetötet worden war, durch Ammoniumkarbonatlösung Eiweißkörper ausgezogen, die er teils als koagulierbare Albumine, teils als fadenziehende, „pseudomucinähnliche" Körper bezeichnet.

WINTERSTEIN (9) und HOFMANN (1) berichten ausführlich in einer 25 gemeinsamen Mitteilung (1), daß sie drei Speisepilze, am genauesten den Steinpilz (*Boletus edulis*), auf Eiweißkörper untersucht haben. Der scharf getrocknete, fein gepulverte und mit Aether erschöpfte Pilz enthielt 6,20 Proz. Stickstoff. Etwa ein Drittel der ihn enthaltenden Verbindungen war mit Wasser ausziehbar. Mittelst Pepsinsalzsäure konnten 30 aus dem Rückstand weitere 85 Proz. Stickstoff in Lösung gebracht werden. Die so ausgezogene Substanz, welche Xanthoprotein-, MILLON- und Biuret-Reaktion gab, enthielt 14,8—14,4—15,36 Proz. Stickstoff. Von den letzteren 15,36 Proz. entfallen 5,52 Proz. auf Hexonbasen: 3,44 Proz. auf Arginin-, 1,88 Proz. auf Histidin-, 1,20 Proz. auf Lysin-35 stickstoff, oder: von 100 g Pilzeiweiß entfielen auf Histidin 6,3 g, auf Arginin 10,7 bzw. 11,3 g, auf Lysin 6,1 g. Von Aminosäuren waren Leucin und Tyrosin vorhanden. Letztere Substanz ist zufolge BOURQUELOT und HARLAY (1) in vielen Hutpilzen, zumal in deren Stiel, nachweisbar. In Rotzbazillen hat KRESLING (1) neben Albumosen und Pep-40 tonen auch Tyrosin nachgewiesen. Erwähnt zu werden verdient, daß ein bisher allein aus dem Tierreich bekanntes Abbauprodukt der Eiweiße, der Harnstoff, in neuester Zeit von M. BAMBERGER und LANDSIEDL (1) in reifen Fruchtkörpern von *Lycoperdon Bovista* L. und *L. pusillum* BATSCH, und zwar bis zu 3,5 Proz., angetroffen wurde.

45 Es erübrigt noch, einige Angaben über die oben genannten Spaltprodukte der Eiweißkörper zu machen. Das Lysin ($C_6H_{14}N_2O_2$) ist 1—5 Diaminocapronsäure, $CH_2 \cdot (NH_2) \cdot (CH_2)_3CH \cdot (NH_2) \cdot COOH$. Das Arginin ($C_6H_{14}N_4O_2$) ist zufolge E. SCHULZE und WINTERSTEIN (1) Guanidin-Aminovaleriansäure, $NH : C(NH_2) \cdot NH(CH_2)_3 \cdot CH(NH_2) \cdot$ 50 $COOH$. Das Histidin ($C_6H_9N_3O_2$) ist in seiner Konstitution noch fraglich; FRÄNKEL (1) gibt nachstehende beide Formeln als gleich wahrscheinlich an:

$$\begin{array}{lll} CH = N - C - COOH & & C(CH_3) = N - C - COOH \\ | \qquad\quad \| & \text{oder} & | \qquad\qquad\quad \| \\ NH - CH_2 - C - CH_2 \cdot NH_2 & & NH - CH_2 - C \cdot NH_2 \end{array}$$

Gegen beide Formeln wird jedoch von WEIGERT (1) der Einwand erhoben, daß sie kein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthalten. also der optischen Aktivität des Histidins nicht gerecht werden. Diese eben genannten drei Substanzen, denen augenscheinlich eine sehr wesentliche Rolle beim Aufbau des Eiweißmoleküles zukommt, bezeichnet man auch, 5 wegen der sechs Kohlenstoffatome, zusammen als Hexonbasen. Im Gegensatz zu ihnen tragen die nachfolgenden Säurecharakter: Leucin ($C_6H_{13}NO_2$) ist Isobutylaminoessigsäure, $(CH_3)_2 : CH \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$. Phenylalanin ($C_9H_{11}NO_2$) ist Phenylaminopropionsäure, $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$. Ihm nächst verwandt ist 10 das Tyrosin ($C_9H_{11}NO_3$), nämlich Oxyphenylalanin ($C_6H_4 \cdot OH \cdot CH_2 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$), und von jenem nur durch die Hydroxylgruppe, in Parastellung, verschieden. Das Tyrosin ist der Träger der MILLON'schen Reaktion. Cystin ($C_6H_{12}N_2S_2O_4$) ist die Doppelverbindung ($[S \cdot C \cdot (CH_3)(NH_2) \cdot COOH]_2$) des Cysteins oder der Aminothiomilchsäure 15 ($CH_3 \cdot C(NH_2)(SH) \cdot COOH$).

Wer sich über die Eiweißchemie näher unterrichten will, findet sie nach ihrem neuesten Stande bei COHNHEIM (2) ausführlich behandelt.

§ 64. Allgemeines über Enzyme; Einteilung und Benennung, Wirkungsweise und Wirkungsgesetze. 20

Eine den Eiweißkörpern nahestehende Klasse eigenartiger Substanzen sind die Enzyme. Der Begriff ist schwierig zu umgrenzen, wenngleich wir zurzeit ziemlich genau angeben können, was wir zu den Enzymen rechnen müssen und was nicht.

Ein Merkmal derselben ist jedenfalls ein verhältnismäßig äußer- 25 liches, unwesentliches: das nämlich, daß sie getrennt von der lebenden Zelle in wäßriger Lösung noch die gleiche oder annähernd gleiche Wirkung entfalten, die ihnen physiologisch zukommt. Es leuchtet ein, daß es sehr wohl Körper geben könnte, die sich in allen anderen Merkmalen jenen anschließen, nur in der einen Eigenschaft nicht. Solche 30 würden sich unserer genaueren Beobachtung entziehen, ohne daß ihre Wirksamkeit sich von der der Enzyme irgendwie zu unterscheiden brauchte.

Gemeinsam ist allen, daß sie je eine bestimmte, ihnen besonders eigene, chemische Umsetzung hervorrufen, die sich, soweit wir in die Konstitution des Ausgangsmaterials Einblick haben, durch eine einfache 35 Gleichung ausdrücken läßt. Wo irgend man einem Enzym mehrere Wirkungen zugeschrieben hat, dürfen wir mit BOURQUELOT (15) und mit BOURQUELOT und HÉRISSEY (8, 9) annehmen, daß es sich um vereinigte Wirkung mehrerer Enzyme handelte (geringe Einschränkungen der letzten Sätze vgl. später). So behauptete GRÜSS (7), daß Diastase die Reserve- 40 cellulose (Mannane und Galactane) auflöse. BOURQUELOT und HÉRISSEY (5, 6) konnten jedoch schon früher feststellen, daß ein besonderes, von der Diastase verschiedenes Enzym, das sie Seminase nennen, jene Auflösung hervorruft; was auch NEWCOMBE (1) bestätigt fand. Es ist eben nicht immer leicht, die in ihrem chemisch-physikalischen Verhalten ähnlichen 45 Enzyme voneinander zu trennen. Die chemische Tätigkeit der Enzyme

müssen wir der weiteren Besprechung ihrer Eigenschaften voranschicken, weil sie am genauesten studiert und zurzeit allein geeignet ist, die Merkmale für die Benennung und Einteilung der verschiedenartigen Enzyme abzugeben.

5 Die ersten Enzyme, die bekannt wurden, waren spaltende, abbauende. Es empfiehlt sich, unter **Spaltung** nur solche Zersetzungen zu verstehen, bei denen ein Körper höherer Zusammensetzung in seine Komponenten, in die in seinem Moleküle bereits enthaltenen Atomgruppen, zerlegt wird (vgl. u.). Solche Spaltung im engeren Sinne ist von den-10 jenigen Umsetzungen, bei denen neue, im Ausgangsmaterial nicht enthaltene Verbindungen entstehen, z. B. von der alkoholischen **Gärung**, grundsätzlich verschieden. Payen und Persoz (1) entdeckten 1833 die Diastase, Schwann (1) 1836 das Pepsin, Liebig und Wöhler (1) 1837 das Emulsin. Eine wesentliche Erweiterung und Vertiefung fand die 15 Kenntnis der Enzyme seit den sechziger und siebziger Jahren des verflossenen Jahrhunderts.

Die drei genannten Enzyme bieten uns bereits drei verschiedene Typen der Spaltung: die der Polysaccharide, die des Eiweißes und die der Glycoside. Der einfachste Fall, die Spaltung eines Disaccharids, wurde 20 erst viel später, 1860, von Berthelot (1) auf Enzymwirkung zurückgeführt; sie verläuft nach der Gleichung:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6.$$

Die Spaltung ist hydrolytischer Art, sie geschieht unter Aufnahme von Wasser, was wohl von allen hier zu betrachtenden Spaltungen 25 gilt; sie gleicht im Erfolg durchaus der Hydrolyse durch warme Säuren.

Der obigen Gleichung entsprechen ebensoviele Einzelfälle, als es Disaccharide und zugehörige Enzyme gibt. Das Invertin (Invertase, franz. Sucrase) spaltet Saccharose in ein Molekül Dextrose + ein Molekül Lävulose. Die Maltase (auch Glucase) spaltet die Maltose 30 in zwei Moleküle Dextrose, die Lactase den Milchzucker (Lactose) in ein Molekül Dextrose + ein Molekül Galactose. Die von Bourquelot (9) entdeckte Trehalase spaltet die in Pilzen verbreitete Trehalose (vgl. § 67) in zwei Moleküle Dextrose. Die von Emil Fischer und Lindner (1) in Hefen beobachtete Melibiase spaltet die Melibiose (Spaltprodukt 35 der Raffinose) in ein Molekül Galactose + ein Molekül Dextrose. Trisaccharide, wie Raffinose, Gentianose u. a. werden zunächst in eine Hexose und ein Disaccharid gespalten, welch letzteres dann erst weiter zerlegt wird; dabei sind zufolge Bourquelot (15) stets zwei Enzyme beteiligt, die in richtiger Reihenfolge nacheinander wirken müssen, 40 um den Erfolg zu erzielen. So wird z. B. die Gentianose (= 2 Mol. Dextrose + 1 Mol. Lävulose) zufolge Bourquelot und Hérissey (7) von Invertase nur in Gentiobiose (= 2 Mol. Dextrose) und Lävulose, aber nicht weiter gespalten. Invertase vermag nur Lävulose aus ihrer Bindung zu lösen.

45 Andere Enzyme sind es, welche die höheren Polysaccharide spalten, und zwar nach der Gleichung:

$$xC_6H_{10}O_5 + xH_2O = xC_6H_{12}O_6.$$

Die Spaltung wird nicht immer durch das gleiche Enzym bis zum Ende geführt, wie bei den verschiedenen Diastasen (oder Amylasen), 50 welche Amylum nur bis zum Dextrin oder zur Maltose zerlegen. Außer diesen gehören hierher die Cytase, welche die Cellulose, die Semi-

nase, welche die Reservecellulose der Samen, die von BOURQUELOT und HÉRISSEY (4) beschriebene Pektinase, welche die Pektine, die Inulase, welche das Inulin, die von GRAN (1) in einem Meeresbakterium gefundene Gelase, welche die Gelose des Agar-Agar spaltet, u. a. m.

An die genannten schließen sich diejenigen Enzyme an, welche 5 Glycoside spalten. Für solche ist das klassische Beispiel das Emulsin, welches das Amygdalin in Benzaldehyd, Blausäure und Glucose zerlegt. Das Myrosin spaltet Sinigrin (myronsaures Kali) in Senföl, Dextrose und Kaliumbisulfat. Nähere Angaben darüber bringt das 26. Kapitel. Wenn die glycosidspaltenden Enzyme unserm Satz von der Ein- 10 artigkeit der Enzymwirkung zu widersprechen scheinen, indem zuweilen das gleiche Enzym verschiedene Glycoside spaltet, so ist doch nicht zu vergessen, daß es stets die gleiche Zuckerart ist, die aus ihrer Bindung gelöst wird. Gerade dieser Umstand erschwert aber die Entscheidung, wie viele verschiedenartige Enzyme wir hier eigentlich kennen. 15

Aehnlich ist die Wirkungsweise derjenigen Enzyme, welche Fette in ihre Bestandteile, in Glycerin und die freien Fettsäuren, zerlegen:

$$C_3H_5(O \cdot C_nH_{2n-1}O)_3 + 3H_2O = C_3H_5(OH)_3 + 3\,C_nH_{2n}O_2.$$

Man bezeichnet sie als Lipasen, und muß es z. Zt. noch unentschieden lassen, ob es verschiedene, und wie viele solcher Lipasen es gibt. 20

Sehr viel schwieriger ist das Verständnis der Tätigkeit der Proteasen, proteolytischen oder eiweißspaltenden Enzyme, weil wir es hier mit einem in seiner Konfiguration höchst mannigfaltigen und erst teilweise erkannten Ausgangsmaterial zu tun haben. Die bezüglichen Namen sind wohl z. T. als Gattungsbezeichnungen aufzufassen. Von solchen En- 25 zymen seien angeführt: das Pepsin des Magensaftes, welches Eiweißkörper nur bis auf Albumosen und Peptone spaltet, hingegen Nucleine wenig oder gar nicht angreift, dann das Trypsin des Darmsaftes, welches Eiweiß viel tiefer, bis auf Amino- und Diaminosäuren, zersetzt, weiter das von COHNHEIM (1) entdeckte Erepsin, welches keinen 30 höheren Eiweißkörper zu spalten vermag, wohl aber Albumosen, Peptone, Casein, Protamine, Histone weiter zerlegt, dann die von HAHN und GERET (1, 2) studierte Endotryptase der Hefenzellen, weiter das im Milchsaft des Melonenbaums (*Carica papaya* L.) enthaltene Papayotin, dessen energische Wirkung schon i. J. 1750 von HUGHES beschrieben wurde. 35

Für die Gesamtheit der hier aufgezählten spaltenden Enzyme möchte ich die kurze und wohl keine Mißdeutung zulassende Bezeichnung Schizasen vorschlagen.

Mit fraglicher Berechtigung schließen wir hier die Gerinnungsenzyme oder Koagulasen an, deren Wirkungsart noch wenig auf- 40 geklärt ist. Ueber das Labenzym oder Chymosin der Magenschleimhaut wird das 9. Kapitel des II. Bandes ausführliche Angaben bringen. Zu den Koagulasen gehört ferner das „Fibrinferment", Thrombase oder Plasmase, welches das Fibrinogen des Blutes in Fibrin umwandelt und damit gerinnen macht. Aehnlich dem Lab wirkt 45 die in Artischocken enthaltene Cynarase, die nach ROSETTI (1) in Italien zur Käsebereitung benutzt wird, und ein von F. WEIS (1) in keimender Gerste entdecktes Enzym. Nach KURAJEFF (1) wirkt auch das Papayotin (s. o.) koagulierend.' Koagulasen sind häufig mit proteolytischen Enzymen zusammen gefunden worden, so daß man wohl 50 auf die Vermutung kommen konnte, letztere wirkten selbst koagulierend. Die i. J. 1840 von FRÉMY entdeckte Pektase macht pektinreiche

Pflanzensäfte gerinnen. In neuester Zeit gewannen WOLFF und FERNBACH (1) aus unreifen und keimenden Samen, aus Blättern und anderen Organen die Amylokoagulase, die eine bei 130° bereitete, 4-proz. Stärkelösung zur Gerinnung bringt. Die chemische Natur dieser Vorgänge ist noch ganz in Dunkel gehüllt.

Ebenfalls noch unaufgeklärt ist die Wirkungsweise der Kinasen, Enzyme, welche andere, an sich unwirksame Substanzen, wie z. B. inaktives Pankreassekret, proteolytisch wirksam machen, ohne für sich allein lösend wirken zu können; vielleicht (?) handelt es sich hier, wie für einen Spezialfall LANNOY (1) betont, nur um eine Art des Zusammenwirkens oder Vorarbeitens, wie bei Pepsin und Trypsin, oder aber die Kinase befreit das andere Enzym erst aus einer Bindung (Proenzym, vgl. u.), die es nicht zur Wirkung kommen ließ.

Eine ganz andere Klasse von Enzymen bilden die Oxydasen, deren Wirkung darin besteht, molekularen Sauerstoff zu spalten und damit aktiv zu machen. Das erste solche Enzym wurde von YOSHIDA (1) im Saft des Lackbaums, *Rhus vernicifera* L., gefunden und darum später von BERTRAND (1, 2) Laccase genannt. Aehnliche Enzyme sind dann in allerhand andern Organismen gefunden worden. Sie lösen charakteristische Farbreaktionen aus, bläuen z. B. an der Luft Guajaktinktur, schwärzen Tyrosin durch Oxydation zu Homogentisinsäure (vgl. GONNERMANN [1]), weshalb BERTRAND (3) für eines von ihnen den Namen Tyrosinase eingeführt hat. Nicht alle Oxydasen sind von gleicher Wirkungsart; so fand GRÜSS (5), daß die Oxydase obergäriger Hefe nicht auf Guajak, wohl aber auf Tetramethylparaphenylendiamin einwirkt, und unterscheidet darum Guajak- und Amin-Oxydasen.

Den Oxydasen verwandt sind die Peroxydasen, die nicht das Sauerstoffmolekül, wohl aber Peroxyde, wie das des Wasserstoffs, zu spalten vermögen. Sie bewirken in Gegenwart von H_2O_2 oder anderen Peroxyden die gleichen Farbreaktionen wie die Oxydasen mittelst atmosphärischen Sauerstoffs. Häufig sind Oxydasen und Peroxydasen vereinigt, wie in dem von RACIBORSKI (1, 2) in vielen Pflanzen nachgewiesenen Leptomin. CHODAT und BACH (5) nehmen an, die von ihnen untersuchte Oxydase bestehe aus zwei Enzymen, einem ein Peroxyd bildenden Sauerstoffüberträger, der Oxygenase, und einem das Peroxyd aktivierenden Anteil, der Peroxydase. Nach der eigenartigen Natur des Hydroperoxyds dürfen wir annehmen, daß es sowohl durch Oxydation als auch durch Reduktion zerlegt werden kann:

$$H_2O_2 + O = H_2O + O_2$$
$$H_2O_2 - O = H_2O.$$

Außer diesen kennen wir andere Enzyme, die man nach LOEW's (1) Vorgang als Katalasen bezeichnet, welche Hydroperoxyd reduzieren, und zwar vermutlich zu molekularem Wasserstoff und Sauerstoff:

$$H_2O_2 = H_2 + O_2.$$

Die Katalasen geben mit Wasserstoffsuperoxyd keine Guajakreaktion, können also nicht das Peroxyd aktivieren.

Nach ABELOUS und ALOY (1) soll es im Tier- und Pflanzenreich Enzyme geben, die gleichzeitig reduzierend und oxydierend wirken, die z. B. Salicylaldehyd zu Salicylsäure oxydieren, jedoch nur im Beisein von Kaliumchlorat oder ähnlichen sauerstoffreichen Verbindungen, welche sie reduzieren.

Etwas fraglicher Art sind die Körper, die man wohl als Reduktasen zusammengefaßt hat, fraglich besonders hinsichtlich ihrer Verwandtschaft mit den im allgemeinen eiweißartigen Enzymen. REY-PAILHADE (1, 2) beschrieb als Philothion der Hefenzellen eine Substanz von sehr starker Reduktionskraft, die beim Erwärmen mit Schwefel 5 H_2S liefert, und welche nach POZZI-ESCOT (3) auch Selen und Phosphor zu H_2Se und H_3P reduziert. Die Substanz wird den Hefenzellen durch verdünnten Alkohol entzogen; nach POZZI-ESCOT (2) soll sie mit LOEW's Katalase identisch sein. Die von ABELOUS und GÉRARD (1) aus tierischen Organen gewonnene Reduktase zeigt ausgesprochen den Enzym- 10 charakter. Die Nitratreduktion im Hefenpreßsaft dagegen ist nach WRÓBLEWSKI (2) wohl kein enzymatischer Vorgang. Das Gleiche gilt sicher für die von LEGRAIN (1) beobachtete Reduktion durch Bakterien, deren reduzierende Substanz sich überdestillieren ließ. Dagegen konnten CATHCART und HAHN (1) die reduzierende Wirkung ihrer Bakterien 15 durch Erwärmen auf 60° vernichten, was wiederum auf ein Enzym zu deuten scheint. Nach M. HAHN (2) ist auch in der Hefenzelle ein reduzierendes Enzym tätig. POZZI-ESCOT (4) unterscheidet Hydrogenasen, welche mit Schwefel H_2S bilden, und Reduktasen, die zu letzterer Leistung nicht fähig sind. Nach dem gleichen Autor sollen Hydroge- 20 nasen, wo sie zugegen sind, die Guajakreaktion der Oxydasen oder Peroxydasen verhindern. Auf Reduktasen von typisch verschiedener Reduktionskraft weisen auch die Untersuchungen von CHODAT und BACH (6) hin.

Als letzte Hauptklasse nennen wir die gärenden Enzyme, denen man praktisch den Gattungsnamen Zymasen geben könnte, wenn 25 für ihr wichtigstes Glied, die Zymase im engeren Sinne, der Name Alkoholase schon allgemein eingeführt wäre. Ihre Tätigkeit ist die eigentliche Gärung, wie der Begriff sich bei H. FISCHER (1) umgrenzt findet, also die Umlagerung von Sauerstoff innerhalb der gleichen Substanz, unter gleichzeitiger Oxydation und Reduktion der verschiedenen 30 Kohlenstoffatome, unter Vermehrung der vorhandenen Kohlenstoff-Sauerstoff-Bindungen, wobei denn auch die Zersetzung eines Moleküles in mehrere stattfinden kann:

$$CH_2OH \cdot (CHOH)_4 \cdot COH = 2\ O:C:O + 2\ CH_3 \cdot CH_2OH.$$

Der Vorgang ist wesentlich verschieden von der Inversion des 35 Rohrzuckers, nicht nur wegen der Wanderung der Sauerstoff-Atome: hier wird eine Kohlenstoffkette gesprengt, dort werden zwei mittelst eines Sauerstoffatomes esterartig verbundene Ketten voneinander gelöst. Hierher gehören ferner die schon i. J. 1874 von MUSCULUS beobachtete Urease und das Enzym der Milchsäuregärung, über dessen 40 Existenz nach BUCHNER und MEISENHEIMER (1) kein Zweifel sein kann. Neuerdings will ŠIMÁČEK (1) im Pankreassaft ein Enzym der Buttersäuregärung entdeckt haben; WEINLAND (1) erhielt im ausgepreßten Saft von Spulwürmern aus Kohlenhydraten Valerian-, Capron- und Kohlensäure als Produkte intramolekularer Atmung. 45

Ob die so überaus wichtige Assimilation atmosphärischen Stickstoffs durch Enzyme bewirkt wird, lassen wir dahingestellt.

Unsere Betrachtungen zusammenziehend, kommen wir zu folgender **Einteilung der Enzyme:**

I. Klasse: Abbauende Enzyme, Schizasen.	
1. Gruppe: Kohlenhydrate spaltende	: Invertase, Maltase, Lactase etc., Diastase, Cytase, Pektinase etc.
2. „ : Glycoside spaltende	: Emulsin u. a.
3. „ : Fette spaltende	: Lipasen.
4. „ : Eiweiß spaltende, Proteasen	: Pepsin, Trypsin, Erepsin etc.
Von fraglicher Stellung	: Koagulasen und Kinasen.
II. Klasse: Oxydierende Enzyme.	
1. Gruppe: Oxydasen	: Laccase, Tyrosinase etc.
2. „ : Peroxydasen.	
III. Klasse: Reduzierende Enzyme	: Katalase, Reduktase, Hydrogenase.
IV. Klasse: Gärende Enzyme oder Zymasen	: Alkoholase, Urease etc.

Uebergangen worden sind in dieser Uebersicht die spezifisch giftig wirkenden Substanzen (s. Bd. III, Kap. 4, § 28), die wir von pathogenen Bakterien, sodann hauptsächlich von Tieren und von einigen Pilzen kennen; sie sind vielleicht teils den proteolytischen, teils den koagulierenden Enzymen zuzugesellen. Auf die Aehnlichkeit von Bakterientoxinen mit Enzymen haben wohl Roux und Yersin (1) zum ersten Male hingewiesen. Ueber die noch schwer zu klassifizierenden „Antienzyme“ folgt später eine Bemerkung.

Ueber die Benennung sei so viel gesagt, daß sich und *mit Recht*, schon jetzt fast ausschließlich die Bezeichnung *Enzyme* eingebürgert hat. „*Fermente*“ ist ein viel zu unklarer Begriff, oft auch die Gärungsorganismen selbst umfassend, als daß es sich empfehlen sollte, ihn weiterhin anzuwenden. In Frankreich bezeichnet man vielfach noch die ganze Gruppe der Enzyme als „*diastases*“. Die Endigung *-ase* kennzeichnet die einzelnen Enzyme. Für deren Benennung ist der von Went (2) gemachte und durch von Lippmann (1) aufgenommene Vorschlag beachtenswert, Doppelnamen einzuführen, welche die Worte für das Ausgangs- und das Endprodukt (ev. das wichtigste unter mehreren) enthalten. Namen wie Amylomaltase, Amyloglucase, Maltoglucase etc. bedürfen dann keiner weiteren Erklärung.

Die *Wirkung* der Enzyme dürfen wir dem allgemeineren Begriff der **Katalyse** unterordnen, so wie Ostwald ihn definiert hat: ein chemischer Vorgang, der auch ohne Mitwirkung des Katalysators spontan eintreten, aber außerordentlich langsam, vielleicht unendlich langsam, verlaufen würde, wird durch die Gegenwart des Katalysators derart beschleunigt, daß er in relativ kurzer Zeit nachweisbar und bis zu einem bestimmten Gleichgewichtszustand weiter geführt wird; dieses Gleichgewicht ist praktisch häufig gleichbedeutend mit der völligen Umwandelung der umzuwandelnden Substanz. Doch kann bei Anhäufung der Spaltprodukte die Enzymwirkung lange vor Beendigung der Reaktion zum Stillstand kommen, wie u. a. Tammann (1) in schönen Untersuchungen gezeigt hat. Mit der Theorie vom Gleichgewicht steht die Tatsache in vollster Uebereinstimmung, daß ein Vorgang, der auf einem bestimmten Punkt stehen bleiben würde, fortgesetzt weiter und bis zum Ende verläuft, wenn die Produkte stetig entfernt werden, z. B. die der Inversion durch Vergärung oder nach Windisch und Schellhorn (1) die der Eiweißspaltung durch Dialyse, und daß dieses Entfernen der ent-

stehenden Produkte den Gang des Prozesses jedenfalls beschleunigt. Die Enzymwirkung ist aber keine Auslösung einer vorhandenen Spannung. Denn Auslösungsvorgänge sind unabhängig von der Menge der auslösenden Substanz; die Enzymwirkung aber ist, innerhalb mittlerer Grenzen, der Menge des angewandten Enzyms entweder direkt 5 proportional, wie bei der Invertase und nach FULD (1) bei der Labgerinnung der Milch, oder doch mit derselben steigend. So z. B. ist nach E. SCHÜTZ (1) der Erfolg der Pepsinwirkung proportional der Quadratwurzel der Menge des Pepsins, und das gleiche gilt nach TAMMANN (1) für das Emulsin und nach HENRI (1) für die Amylose- 10 spaltung durch Diastase. Die Geschwindigkeit der Zuckervergärung durch Hefe steht ebenfalls nach O'SULLIVAN (1) nicht im einfachen Verhältnis (aber in welchem?) zur Menge der zugefügten Hefe. Die Dinge liegen hier darum verwickelter, weil die reine Enzymwirkung nicht kontrolliert werden kann, sondern auch die Frage nach Entstehung 15 und Zersetzung der Enzyme mit in Betracht kommt. Sehr auffallend ist der Befund von MASZEWSKI (1), wonach vermehrter Enzymzusatz die Umwandlung herabdrücken soll.

Gleiche Mengen des Enzyms vorausgesetzt, vollzieht sich die Katalyse durchaus nach dem **Gesetz der Massenwirkung** von GULDBERG 20 und WAAGE: die nach einer gewissen Zeit umgewandelte Menge des Ausgangsmaterials ist der Menge desselben direkt proportional. Diese für verschiedene andere Enzyme bekannte Beziehung zwischen Anfangskonzentration und Umsetzungsgeschwindigkeit konnte HERZOG (1) auch für die Alkoholgärung feststellen, und damit noch auf anderem Wege 25 den Beweis erbringen, daß diese ein katalytischer bezw. enzymatischer Vorgang ist.

Für den zeitlichen Verlauf innerhalb einer Umsetzung liegen die Verhältnisse minder einfach. Ein großer Teil der im obigen aufgezählten Enzymwirkungen ist der Hydrolyse mittelst erwärmter Säuren analog, 30 und dieser Vorgang ist geeignet, auch in das Verständnis der Enzymwirkungen einzuführen. Am genauesten studiert sind sowohl für Säureals auch für Enzym-Hydrolyse die Verhältnisse bei der Invertierung des Rohrzuckers. Der erstere Vorgang wurde bereits im Jahre 1850 von WILHELMY (1) in klassischer Weise festgestellt und formuliert; seine 35 Arbeit kam in Vergessenheit, bis sie OSTWALD (1) wieder entdeckte. Die Inversionsgeschwindigkeit φ ist in jedem unendlich kleinen Zeitraum gleich k(a—x), wenn k die Inversionskonstante, a die Anfangskonzentration und x die bereits invertierte Menge des Rohrzuckers bedeutet, also:

$$\varphi = \frac{dx}{dt} = k\,(a-x) \tag{1}$$ 40

oder für eine meßbare Zeit t:

$$k = \frac{1}{t} \cdot \lg \operatorname{nat} \frac{a}{a-x}. \tag{2}$$

Die in jedem Augenblicke umgesetzte Menge ist also der noch vorhandenen nicht umgesetzten Menge proportional; von dieser wird in gleicher Zeit stets der gleiche Bruchteil umgesetzt; die Inversion fällt 45 nach OSTWALD (2, S. 69) unter die „Vorgänge erster Ordnung".

Die gleiche Gesetzmäßigkeit wollten spätere Beobachter auch für die Enzym-Inversion nachgewiesen haben. Es zeigte sich jedoch, daß hier die Verhältnisse anders liegen, wie zuerst DUCLAUX (1, II. Band,

S. 137) festgestellt hat. Die genauere Kenntnis verdanken wir HENRI (1). Dieser fand:

$$\varphi = \frac{dx}{dt} = \left[k_1\left(1 + \frac{x}{a}\right)\right] \cdot (a - x), \text{ oder} \qquad (3)$$

$$2k_1 = \frac{1}{t} \cdot \lg \text{nat} \frac{a+x}{a-x}. \qquad (4)$$

5 Während also bei der Säure-Inversion die jeweilig aktive Menge (a—x) des Rohrzuckers mit einem konstanten Faktor k multipliziert die Reaktionsgeschwindigkeit dx:dt ergibt, ist bei der Enzym-Inversion der Faktor $k_1 \cdot (1 + \frac{x}{a})$ von Gleichung (3) mit fortschreitender Inversion veränderlich, und zwar nimmt er proportional dem relativen Inversionsgrad 10 x:a zu, wie der Ausdruck in der eckigen Klammer zeigt. In jedem Moment ist die Geschwindigkeit der Reaktion nur von der Konzentration der vorhandenen Saccharose und des Invertzuckers abhängig (abgesehen von der Temperatur, vgl. u.), nicht aber vom Zustande des Enzyms. Hohe Anfangskonzentrationen geben etwas geringere Wirkung, als der 15 Proportion entspricht, vielleicht infolge des osmotischen Druckes. Die von HENRI gefundene Formel konnten BROWN (1) für die alkoholische Gärung, BROWN und GLENDINNING (1) für die Diastase bestätigen. Die Labwirkung dagegen fand FULD (1) von der Menge des Caseins unabhängig.

20 Im obigen liegen noch verhältnismäßig einfache Beziehungen vor. Eine Reihe von weiteren Umständen kann aber den Gang der Enzymwirkung beeinflussen, so daß die Feststellung des Verlaufs große Schwierigkeiten bereitet. BREDIG (2) sagt: „Es scheint, als wenn gerade in der Enzymchemie Fälle von Reaktionen mit Gegenreaktion, 25 Folgewirkung und Nebenreaktion vorliegen, deren Bearbeitung selbst dem geübtesten Kenner der chemischen Kinetik erhebliche Mühe bereiten dürfte, und für welche sogar die mathematischen Formeln erst ad hoc zu entwickeln sind.“ Solche verwickeltere Verhältnisse treten z. B. dann ein, wenn die Produkte der Enzymwirkung diese selbst 30 fördernd oder hemmend beeinflussen. So gebt nach CONNSTEIN, HOYER und WARTENBERG (1) die Wirkung der Lipase aus Ricinussamen sprungartig in die Höhe, wenn erst einige Prozente freier Fettsäure entstanden sind. Auch scheint die Regel, daß der Katalysator selbst während der Katalyse und durch dieselbe sich nicht verändere, durchaus nicht für 35 alle Enzyme volle Gültigkeit zu haben. So ist z. B. durch TAMMANN (1) für das Emulsin eine sehr starke Schädigung durch die Spaltungsprodukte festgestellt worden. Allmähliche Veränderung des Enzyms muß aber naturgemäß auch den Gang der Katalyse verändern.

In hohem Maße wird die Enzymwirkung, wie auch jede anorganische 40 Katalyse, durch die **Temperatur** beeinflußt; die Gipfel der für jeden Einzelfall sich ergebenden Kurven liegen sehr verschieden, unterliegen auch Aenderungen durch begleitende Umstände, Konzentration der Substanz, Menge des Enzyms, Säuren, Alkalien, Salze usw. Für die Alkoholase liegt das Optimum nach E. BUCHNER (1) unter 30°; 45 das Pepsin wirkt am raschesten bei ca. 40°, das Emulsin zwischen 45° und 50°, die proteolytischen Enzyme des Gerstenmalzes nach FERNBACH und HUBERT (1) bei 60°, die Koagulase der Hefe nach RAPP (1) bei 80° usw. Andrerseits hebt eine Temperatur von 0° oder

darunter noch nicht jede Enzymwirkung gänzlich auf; so dauert z. B. nach Babcock, Russel, Vivian und Baer (1) die Käsereifung noch bei 15 ° F (= —9,44 ° C) fort. Jenseit des Optimums fällt der Wirkungsgrad rasch. In weiten Grenzen unabhängig von der Temperatur fand Fuld (1) die Labwirkung. Auch den Ergebnissen Green's (1), welcher 5 zeigte, daß Sonnenlicht, zumal in seinen weniger brechbaren Strahlen, die Diastasewirkung vorübergehend erhöht, liegt wohl eigentlich ein Einfluß der Temperaturerhöhung zu Grunde.

Sehr vielseitig ist die **Einwirkung von schwachen Säuren und Alkalien,** indem solche teils das Enzym direkt, teils dessen Wirkung be- 10 einflussen, da sie für sich allein ähnliche Wirkungen wie die Enzyme auszuüben vermögen, andrerseits aber der enzymatischen Tätigkeit entgegenwirken können. Sehr verdünnte Säuren haben meist fördernden Einfluß, so besonders auf Diastase und Invertase. Letztere wird nach Cole (1) durch eine Gabe von freier Salzsäure (und zwar 1 : 3000 der 15 normalen) auf das Zwölffache gesteigert. Die Pepsinverdauung findet überhaupt nur bei saurer Reaktion statt, während das Trypsin gegen Säuren ziemlich empfindlich ist und am besten in neutraler oder schwach alkalischer Lösung wirkt, freilich auch noch in Gegenwart von sehr wenig freier Säure. Das Endotrypsin der Hefe wirkt dagegen nach Hahn und 20 Geret (1) am stärksten in saurer Lösung. Fernbach (1) fand sehr bedeutende Unterschiede in der Schnelligkeit der Spaltung durch Invertase, wenn die Flüssigkeit nur geringe Unterschiede bezüglich saurer oder alkalischer Reaktion zeigte; nach Prinsen-Geerligs (cit. n. Lindet) soll die geringe Acidität der entstandenen Dextrose und Lävulose genügen, 25 um die Inversion zu beschleunigen. Gewisse Beobachtungen lassen darauf schließen, daß, wie die Organismen, so auch Enzyme sich gewöhnen können, eine anfangs hemmende Säurekonzentration später ohne Schädigung zu ertragen.

Auch **Neutralsalze** können in geeigneter Verdünnung förderlich 30 sein. In höheren Konzentrationen hemmen sie die Enzymtätigkeit. Die Wirkung ist sehr verschiedenartig; eine bestimmte Gesetzmäßigkeit ist nicht zu erkennen, es handelt sich wohl um spezifisch-chemische Beziehungen, die von Fall zu Fall wechseln. Doch fand Cole (1) ziemlich durchgehend Steigerung der Enzymtätigkeit durch Salze mit schwacher 35 Basis, wie NH_4Cl und $(NH_4)_2SO_4$, Verzögerung durch Salze mit starker Basis, wie $NaCl$, $BaCl_2$, K_2SO_4, $MgSO_4$. Das eigentliche Wesen solcher Beeinflussung ist noch zu ergründen, eine direkte Einwirkung auf das Enzym wohl wahrscheinlich. Es liegt eine große Zahl von Untersuchungen über diese Dinge vor, eine der ausführlichsten von Fermi und Per- 40 nossi (1). Mit solcher Art der Beeinflussung hat die Tatsache nichts zu tun, daß die Milchgerinnung durch Lab nur im Beisein löslicher Kalksalze stattfindet; die Bildung von Paracasein findet ohne solche statt, aber letzteres gibt erst mit Calcium den Niederschlag. Das gleiche gilt nach Bertrand und Mallèvre (1) und nach Goyaud (1) auch für die 45 Pektase; nur im Beisein von Calcium-, Baryum- oder Strontiumsalzen fällt das Pektat aus, jedoch nicht bei saurer Reaktion. Ist das Calcium durch Kalium, Natrium oder Ammon ersetzt, so bildet sich wasserlösliches Alkalipektat.

Wenn **Protoplasmagifte,** wie die Salze vieler Schwermetalle, be- 50 sonders die des Quecksilbers, ferner Chromate u. a., sowie organische Gifte, wie Formaldehyd, die Enzymtätigkeit schwächen oder aufheben, so ist das etwas ganz anderes als die soeben besprochenen Erscheinungen;

darin liegt eine direkte Schädigung (Tötung, vgl. u.) des Enzyms. In sehr starker Verdünnung können aber solche Gifte, wie überhaupt auf die Lebenstätigkeit, so auch anregend auf die Enzymtätigkeit wirken, nach Lindet (1) z. B. Kupfersalze auf die Invertasewirkung. Unter den Schwermetallen sind **Eisen** und **Mangan** als solche hervorzuheben, die in geringen Mengen für alle oder doch für die meisten Enzymwirkungen unentbehrlich zu sein scheinen, und zwar ganz besonders für die der Oxydasen. Es ist wohl kaum zweifelhaft, daß die beiden Metalle durch ihre wechselnde Wertigkeit, durch ihre Fähigkeit, leicht aus einer Oxydationsstufe in die andere überzugehen (vgl. Bertrand [4]) die Uebertragung des Sauerstoffs auszuführen imstande sind; eines von beiden, wenn nicht beide, sind denn auch häufig in Enzymen vorhanden. Nähere Angaben darüber sind im 27. Kapitel zu finden.

In allen hier berührten Punkten liegen deutliche **Beziehungen zu den anorganischen Katalysatoren** vor, deren Wirkung ganz ebenso wie die der Enzyme durch fremde Beimengungen, durch die Temperatur und andere begleitende Umstände beeinflußt, teils beschleunigt, teils verlangsamt oder vorübergehend bzw. dauernd aufgehoben wird. Auch hinsichtlich der Spezifität besteht, wie Bredig (2) betont, wenn er auch dabei in der Gleichstellung der beiden Kategorien etwas zu weit geht, kein durchaus trennender Unterschied, weil auch die Wirksamkeit der anorganischen Katalysatoren häufig eng begrenzt ist, ausgenommen freilich die Säurehydrolyse, und weil andrerseits auch die Enzymwirkung nicht immer ganz einseitig ist. So spaltet z. B. das Emulsin, nach einer neuerdings von Wróblewski, Bednarski und Wojczynski (1) bestätigten, von Bourquelot und Hérissey (7, 8) allerdings bestrittenen Angabe Emil Fischer's, außer verschiedenen (auch künstlichen) Glycosiden auch den Milchzucker. Eine andere Aehnlichkeit zwischen Enzym und Katalysator liegt in der Tatsache, daß von beiden eine äußerst geringe Menge hinreicht, um ein Vielfaches an Substanz umzusetzen. Für die Enzyme läßt sich das Verhältnis noch nicht einmal annähernd bestimmen, weil noch kein Enzym wirklich rein dargestellt werden konnte; die riesigen Zahlen stellen also immer noch Minimalwerte dar. So spaltet ein Teil Invertase mindestens 100000 Teile Rohrzucker, ein Teil Labenzym bringt wenigstens 400000 Teile, nach Fuld sogar 30000000 Teile Casein zur Gerinnung. Aehnliche, z. T. noch größere Zahlen gelten nach Bredig (1, 2) für kolloidales Platin oder Gold. Andrerseits entspricht dem die Wirkung der Toxine, unter welchen z. B. vom Tetanustoxin 0,23 mg genügen würden, einen Menschen zu töten.

Von ganz hervorragender Bedeutung war jedoch der Nachweis, daß Enzymwirkung wie anorganische Katalyse **reversible Vorgänge** sind, d. h. solche, die unter gegebenen Bedingungen rückläufig werden können, so daß **derselbe Faktor, der im einen Falle abbauend sich betätigt, im anderen Falle eine Synthese vollziehen kann.** Es waren gleichzeitig Wohl (1) und Emil Fischer (1), denen es im Jahre 1890 zuerst gelang, durch langdauernde Einwirkung von starker Salzsäure auf Dextrose Kondensationsprodukte zu erhalten, neben Isomaltose dextrinartige Körper. Hill (1) machte acht Jahre darauf die Beobachtung, daß Hefenmaltase in konzentrierter Glucoselösung Maltose erzeuge, von welcher später Emmerling (1) nachwies, daß es (wie oben) Isomaltose sei. Hill (2) fand dann unter Verwendung von Takadiastase (von *Aspergillus Oryzae*) folgendes: Eine Lösung von 35 Proz. Glucose und 6 Proz. Maltose wird so weit hydrolysiert, bis unter den Versuchs-

bedingungen bei 39 Proz. Glucose und 2 Proz. Maltose das Gleichgewicht eintritt. In 60-proz. Glucoselösung findet Umkehr statt; es entstehen 2 Proz. Maltose. Bei Wasserzusatz erfolgt wiederum hydrolytische Spaltung. E. FISCHER und ARMSTRONG (1) erhielten dann aus gleichen Teilen Glucose und Galactose, mittelst wässrigen Auszuges von Kefir- 5 körnern, Isolactose. HILL (3) gewann derart aus Glucose mittelst Hefenauszuges ein neues Disaccharid, das er Revertose nennt. Es bedarf noch der Erklärung, warum gerade diese aus natürlichem Fundorte bisher unbekannten Körper entstehen; jedenfalls ist es höchst auffallend, daß Isomaltose zwar durch ein Hefenenzym erzeugt, aber nach E. FISCHER (4) 10 von keinem Hefenenzym gespalten werden kann. A. CREMER (1) beobachtete die Entstehung von Glycogen in einem davon freien Hefenpreßsaft, EMMERLING (2) die Bildung von geringen Mengen von Amygdalin aus Mandelsäurenitrilglucosid und Glucose mittelst Hefenmaltase. POTTEVIN (2) erhielt mittelst Pankreasauszuges aus Glycerin und Oleinsäure 15 das Glycerid, und zwar proportional der Menge des Extraktes. Schon vorher hatten KASTLE und LOEVENHART (1) aus Alkohol und Buttersäure mittelst Lipase den entsprechenden Ester dargestellt, und ebenso HANRIOT (1) aus Buttersäure und Glycerin den Ester erhalten, und zwar zu etwa ein Sechstel der Summe des Gewichtes des Ausgangsmaterials. 20 BERNINZONE (1) fand die Synthese bestätigt und erklärt sie durch Einwirkung der freien Fettsäure auf das Enzym, das dadurch zur Umkehrung des Vorganges bewogen werde. Von weitesttragender Bedeutung für die Biologie scheint aber die Entdeckung HERZOG's (4) zu sein, welcher zufolge Pepsin, Trypsin und Papayotin in starken Albumoselösungen ein 25 Zusammentreten der Albumosen zu höheren Verbindungen bewirken, die den ursprünglichen Eiweißkörpern identisch oder isomer sind. Auch die bei der Säurehydrolyse der Eiweißkörper in geringen Mengen auftretenden Melanine und Melanoidine werden wohl mit Recht als Kondensationsprodukte aufgefaßt. Es scheint also, als ob jedes abbauende Enzym bei 30 höherer Konzentration der Spaltprodukte zur aufbauenden Tätigkeit übergehen könne.

Kehren wir zu der spaltenden Wirkung zurück, so ist die Frage von Interesse, ob eine **Verbindung zwischen dem Enzym und der zu spaltenden Substanz** eintritt, eine Frage, die von der Mehrzahl der Be- 35 obachter bejaht wird. Nach O'SULLIVAN und THOMPSON (1) erträgt die Invertase, die in reinem Wasser durch Erhitzen leicht zerstört wird, im Beisein von Rohrzucker eine um 25° C höhere Temperatur, was wohl nicht anders als so gedeutet werden kann, daß die beiden Stoffe sich vereinigen. HENRI und LALON (1) ließen Emulsin sowohl auf Salicin und 40 Amygdalin allein als auch auf ein Gemisch beider reagieren; die Wirkung auf letzteres war geringer als die Summe der Einzelwirkungen, aber größer als eine jede für sich, worin ebenfalls ein Hinweis auf obige Annahme liegt. Auch die Gelatineverflüssigung durch Trypsin ist nach HENRI und LANGUIER DES BARCELS (1) im gleichen Sinne zu deuten. Und 45 zu derselben Ueberzeugung kam HANRIOT (1) bezüglich der Lipase, da lipolytische Wirkung auch durch die Oxyde solcher Metalle ausgeübt wird, die, wie Eisen, Aluminium und Zirkonium, mit organischen Säuren leicht dissoziierbare Salze bilden; in ähnlicher Weise bilde sich auch eine Verbindung Lipase-Fettsäure, welche fortgesetzt gespalten und neu 50 gebildet würde. Es scheint, als ob in gewissen Fällen nicht eine eigentliche chemische Bindung, sondern ein Zustand der Lösung des einen Körpers in dem anderen vorliege, wie das besonders für bakterielle und

andere Hämolysine durch eine Reihe von Arbeiten (vgl. RANSOM [1], BASHFORD [1], SACHS [1], VOLK [1], P. TH. MÜLLER [1], LANDSTEINER und JAGIĆ [1] u. a.) und für die Beziehung des Labes zum Casein von FULD (1) wahrscheinlich gemacht wird. Wir beschränken uns hier auf den Hin-
5 weis, daß eine enge Beziehung zu Vorgängen der Lösung (Verteilung zwischen zwei Lösungsmitteln) besteht, daß aber eine bestimmte Entscheidung, ob chemische Verbindung oder Lösung, zurzeit nicht gefällt werden kann, zumal beide Begriffe selbst nahe verwandt sind und wohl auch von Fall zu Fall Verschiedenheiten vorliegen. Die hier und da
10 ausgesprochene Anschauung, daß kolloidale Körper überhaupt nicht miteinander in Lösung gehen könnten, ist durch eine ganze Reihe verschiedenartiger Beobachtungen als widerlegt anzusehen.

Für die Wirkungsweise der Enzyme scheint aber noch ein weiterer Gesichtspunkt von allgemeingültiger Bedeutung vorzuliegen: das ist die
15 direkte **Beziehung der Enzymwirkung zu den Sauerstoffatomen.** Für Oxydasen, Peroxydasen, Katalasen und Reduktasen liegt solche ja auf der Hand, ebenso für alle echten Gärungen, bei denen die Wanderung der Sauerstoffatome die primäre, die Sprengung der Kohlenstoffkette eine sekundäre Nebenerscheinung ist. Für die spaltenden Enzyme liegt aber
20 eine ganz ähnliche Beziehung vor. Soweit wir in die Konfiguration der zu spaltenden Substanz Einblick haben, sind es durchweg esterartige Verbindungen; Polysaccharide, Glycoside und Fette hängen in Sauerstoffatomen zusammen und werden an dieser Stelle durch das Enzym auseinandergerissen. Wenn wir also die Eiweißkörper, für welche eine
25 Verkettung der gleichen Art nach HOFMEISTER (2) u. a. nicht anzunehmen ist, ausschließen, so bekämen wir den wichtigen Satz, daß alle Enzymwirkung an Sauerstoffatomen angreift. Dabei drängt sich der Gedanke an die zuerst von BRÜHL (1) vermutete Vierwertigkeit des Sauerstoffs auf — ein Gedanke, dem wir hier nicht weiter nachgehen
30 können. Die Annahme SACHAROFF's (1), daß alle Enzyme oxydierend wirken, ist wohl eine unberechtigte Verallgemeinerung; die öfters in der Literatur wiederkehrende Behauptung, daß alle Enzyme Peroxyde aktivierten, dürfte auf die ungemein weite Verbreitung von Peroxydasen zurückzuführen sein. Darum beweisen auch die Versuche von GRÜSS (3 bzw. 4)
35 über das Eindringen von Diastase in das Stärkekorn und von Cytase in die Endospermzellwand nur das Eindringen oder Nichteindringen der Peroxydase.

Sehr wesentlich für die Beurteilung der Enzymwirkung ist schließlich deren **Beziehung zur sterischen Konfiguration** der zu verarbeitenden
40 Substanz, auf welche besonders EMIL FISCHER (2, 5) hingewiesen hat. Wenn ein Enzym die eine Zuckerart anzugreifen vermag, eine isomere jedoch nicht, so kann das nur daran liegen, daß die Moleküle ihrer ganzen Beschaffenheit nach zueinander passen müssen „wie Schlüssel und Schloß". Nur in diesem Fall tritt die Reaktion ein, im anderen bleibt sie aus. Und
45 was von dem Ausgangsmaterial gilt, das gilt mutatis mutandis auch vom Endprodukt. Vgl. die Angaben im 15. und 26. Kapitel des vorliegenden Bandes, im 3. Kapitel des II. Bandes und im 19. Kapitel des IV. Bandes.

§ 65. Biologische Bedeutsamkeit der Enzyme, ihre Verbreitung im Pilzreiche und ihre chemische Natur.

50 Die Bedeutung der Enzymtätigkeit für das Leben der Organismen ergibt sich aus der im vorhergehenden Paragraphen gekennzeichneten

Art der chemischen Umsetzungen. Vielseitig wie diese sind, ist auch der biologische Wert der Enzyme, die uns zeigen, wie bis zu den kleinsten einzelligen Wesen herab eine weitgehende Arbeitsteilung stattfindet.

Den spaltenden Enzymen kommt die Aufgabe zu, an sich nicht verwendbare Stoffe durch Zerlegung in einfachere, lösliche und diffundierbare Substanzen umzuwandeln. Darum muß ein Teil dieser Verdauungsenzyme (im weiteren Sinne des Wortes) aus der Zelle ausgeschieden werden, sofern er bestimmt ist, außerhalb befindliche Körper (Eiweißstoffe, Cellulose, Stärke u. a.) in der angedeuteten Weise zu zersetzen. Spaltende Enzyme werden aber ihre Wirkung auch innerhalb der Zelle zu entfalten haben, wo es darauf ankommt, darin niedergelegte Reservestoffe aufzulösen, oder wenn (wie bei Invertase und Maltase) die umzusetzende Substanz bereits gelöst und fähig ist, in die Zelle einzudringen. Die von HAHN (1) vorgeschlagene Einteilung in **Endoenzyme** und **Ectoenzyme** ist deshalb biologisch nicht unwesentlich. Letzterer Begriff würde sich fast vollständig mit dem der Verdauungsenzyme decken, denn unter Verdauung fassen wir ja all die Vorgänge zusammen, durch welche außerhalb der Zelle befindliche Stoffe in lösliche, diffundierbare und im Stoffwechsel nun erst verwendbare Produkte umgewandelt werden. Solche Ectoenzyme, zumal die proteolytischen (s. Bd. III., S. 121), sind von den sie ausscheidenden Mikroorganismen meist durch einfache Filtration zu trennen. Eine gewisse Uebergangsstellung nehmen die Invertase und ihre Verwandten ein, die in der Regel intracellulär bleiben. Die Invertase tritt nur unter besonderen Bedingungen, z. B. zufolge LINTNER (2) und ISSAEW (1) aus plasmolysierten Zellen, aus. Diese Enzyme also verdauen innerhalb der Zelle die von außen eingedrungenen Kohlenhydrate, die im allgemeinen nach dem von EM. FISCHER und P. LINDNER (1) aufgestellten Satz nur in der Form der Monosaccharide verwendbar sind.

Dieser Satz, der bezüglich der Einwirkung von Hefe auf Saccharose bereits 1828 von DUMAS und BOULLAY ausgesprochen wurde, gilt zweifellos für die Hefen, denn als nutzlose Sekrete werden Invertase und Maltase nicht erzeugt. Er scheint aber nicht für alle Organismen zu gelten. Interessante Versuche in dieser Richtung liegen von GRIMBERT (1) betreffend den *Bacillus pneumoniae* vor, deren wichtigstes Ergebnis ist, daß die Darbietung von Disacchariden ganz andere Gärprodukte als die von Monosacchariden entstehen läßt; im ersteren Falle wurden neben wenig Linksmilchsäure bis über 30 Proz. Bernsteinsäure gefunden, die im letzteren Falle ganz fehlte und durch Linksmilchsäure ersetzt war. Hier ist wohl, wie auch bei der von WENT (2) untersuchten *Monilia sitophila*, eine direkte Verarbeitung der Disaccharide als bewiesen anzusehen, und es wäre von hohem Interesse, auch andere Organismen auf die Frage hin zu prüfen.

Bis jetzt stehen diese Ausnahmsfälle vereinzelt da; die Mehrzahl der Lebewesen scheint invertierende Enzyme auszubilden, deren Dasein auf die Unfähigkeit hinweist, Polysaccharide unmittelbar zu verwerten. Die Inversion außerhalb der Zelle würde ganz unnützen Mehrverbrauch an Substanz zur Folge haben; es ist also nur natürlich, wenn wir sie innerhalb sich abspielen sehen. Es entspricht auch durchaus der physiologischen Bedeutung derjenigen Enzyme, welche Reservestoffe auflösen und dem Stoffwechsel wieder zuführen, wenn solche wenigstens bei den einzelligen Wesen als Endoenzyme wirken. So erklärt es sich z. B., daß nach KOCH und HOSAEUS (1) die Hefe kein Ectoenzym abscheidet, welches Glycogen zu spalten vermöchte; diese Tätigkeit wird eben durch ein

Endoenzym ausgeübt, dessen Vorkommen wir mit R. TROMMSDORF (1) als zweifellos ansehen dürfen.

Die Aufgabe der spaltenden Enzyme liegt somit klar zu Tage. Weniger gilt das für die Oxydasen und Peroxydasen, deren Be-
5 ziehung zur Atmung wohl sehr wahrscheinlich, aber doch nicht vollständig bewiesen ist. CHODAT und BACH (3) sind überzeugt, daß die Oxydasewirkung in der lebenden Zelle sehr viel lebhafter sei als bei künstlicher Versuchsanstellung, was wohl geeignet sein könnte, die gegen die Vermittlung der Oxydasen bei der Atmung vorgebrachten Einwände
10 zu entkräften. Andrerseits kommen Oxydationsvorgänge vor, wie die Umwandlung von Fetten in Kohlenhydrate, welche, ebenso wie die Umkehrung des Prozesses, auf Enzyme zurückzuführen sein dürfte, die wir aber nicht wohl der Atmung zuteilen können. Von BUCHNER und MEISENHEIMER (1) wurde jüngst für Essigbakterien, deren Atmung als
15 Zwischenprodukt Essigsäure erzeugt, die entsprechende Oxydase nachgewiesen. Ganz vor kurzem sind zwei Mitteilungen von KOSTYTSCHEW (1) und MAXIMOW (1) erschienen, in denen über die Herbeiführung von Atmungsvorgängen durch Enzyme von Schimmelpilzen (*Rhizopus nigricans* und *Aspergillus niger*) berichtet wird.

20 Ueber die Bedeutung der Reduktasen läßt sich zurzeit noch nichts Zuverlässiges sagen. LOEW (1) vermutet, daß seine Katalase das entstehende Hydroperoxyd zu zerstören bestimmt sei; CHODAT und BACH (1) bezweifeln diese Annahme, wohl mit Recht.

Die gärenden Enzyme haben mit den Oxydasen das gemein, daß
25 ihre Tätigkeit als exothermaler Vorgang der Zelle vitale Energie liefert. HERZOG (3) teilt die Enzyme ein in solche mit sehr gering positiver (Spaltungsenzyme), mit stark positiver (Oxydasen und Zymasen) und mit vielleicht negativer (Reduktasen) Wärmetönung. Ueber die hierzu in Beziehung stehende Frage betreffend die sog. intramolekulare Atmung
30 enthält das 13. Kapitel einige Angaben. Ihrem Wesen entsprechend sind die Zymasen (im weiteren Sinne) Endoenzyme; ihre Wirkung ist normal an die Zelle gebunden und nur durch gewaltsame Eingriffe von derselben trennbar, wie die Alkoholase und das Milchsäureenzym. Bezüglich der Urease gehen die Meinungen auseinander. Den älteren An-
35 gaben zufolge trete sie außerhalb der Bakterienleiber auf. BEIJERINCK (4) und MOLL (1) fanden sie schwer von jenen trennbar und selbst aus getöteten Bakterien nicht herausdiffundierend. MIQUEL wiederum (s. Bd. III, S. 82) gewinnt sie durch einfaches Filtrieren der Zuchten. Es scheint somit von der Urease das zu gelten, was oben von der In-
40 vertase gesagt ist: sie verläßt die Zellen nur unter bestimmten Bedingungen. Den gärenden Enzymen kann jedoch noch eine zweite, unter Umständen sehr wichtige biologische Bedeutung zukommen, auf welche wohl zuerst LINDNER (4) und später WORTMANN (1) an einem besonders schönen Beispiel hingewiesen haben: wird das Gärprodukt von seinen
45 Erzeugern in höherer Konzentration vertragen als von anderen, mitbewerbenden Lebewesen, so kann sich eine sehr intensive Gärfähigkeit herausbilden, die mit der Gewinnung vitaler Energie wenig mehr zu tun hat, aber ihren Trägern wesentliche Vorteile im „Kampfe ums Dasein" verleiht. Solche förderliche Wirkung hat das Enzym der Alkoholgärung
50 und das der Milchsäuregärung, nicht minder aber die Oxydase der Essigbakterien. Das gleiche gilt von mancherlei Produkten der Fäulnis.

Die Frage nach der **Herkunft der Enzyme** ist im allgemeinen dahin zu beantworten, daß sie aus dem Eiweiß der Zelle, wohl durch Ab-

spaltung, hervorgehen. Die hypothetischen Muttersubstanzen bezeichnet man als **Zymogene** oder **Proenzyme.**

Daß auch die Enzymbildung von einer Reihe äußerer Faktoren abhängig ist, gerade so wie die Enzymwirkung, ist wohl selbstverständlich. Untersuchungen darüber werden dadurch erschwert, daß man die Enzymbildung nur an der Enzymwirkung kontrollieren kann, beide aber verschiedene Abhängigkeit zeigen können. Ueber die Frage der sog. Selbstregulierung der Enzymbildung wird das 13. Kapitel Näheres besagen.

Wir dürfen die biologischen Betrachtungen nicht abschließen, ohne in Kürze der **Antienzyme** zu gedenken, also solcher Enzyme, die anderen entgegenwirken. Vielleicht sind in allen Zellen gleichzeitig alle überhaupt möglichen Enzyme tätig und je nach den Bedingungen überwiegt die eine oder die andere Wirkung. Zwei einander bekämpfende Klassen von Enzymen haben wir bereits kennen gelernt: die Oxydasen und die Reduktasen; auf ihre Wechselwirkung in Pflanzen hat u. a. Czapek (5) hingewiesen. Aber auch viele andere Enzyme haben ihre (ebenfalls Enzymcharakter tragenden) „Antikörper“. Das von Morgenroth (1) gewonnene „Antilab“ verhindert die Labgerinnung, wenn es in genügender Dosis zugefügt wird. Ein „Antitrypsin“ hat Weinland (1, 2) in den Zellen der Magenschleimhaut, andrerseits auch in Band- und Spulwürmern nachgewiesen. Antienzyme lassen sich künstlich im Tierkörper erzeugen, wie z. B. das genannte Antilab. Und durch die spezifischen Antikörper kann man wiederum die Enzyme voneinander unterscheiden, da jedes Antienzym nur gegen das eine Enzym wirkt, durch das es erzeugt worden ist. Hierher gehören auch die im Tierkörper teils schon enthaltenen, teils künstlich hervorzurufenden Antitoxine, Hämolysine und Antilysine, Alexine, Agglutinine, Präcipitine mit ihren Antikörpern u. a. m. Einige Angaben über diese Substanzen findet man im § 28 des 4. Kapitels des III. Bandes. Erwähnt sei nur noch, daß allem Anschein nach auch pathogene Bakterien ihre Antikörper als Gegenwehr gegen die Alexine des befallenen Tierkörpers erzeugen.

Vielseitig wie die Wirkungsweise ist die **Verbreitung der Enzyme** in der belebten Natur. Ja, wir dürfen sagen, daß ein lebendes Wesen ohne Enzyme uns ernstlich nicht vorstellbar ist; denn wir haben gesehen, wie so ziemlich alle in der Zelle stattfindenden chemischen Vorgänge, selbst Synthesen, durch Enzyme bewirkt werden. Ueber das Vorkommen von Enzymen im Tier- und Pflanzenkörper liegen ungemein viele Untersuchungen vor; wir können hier nur das berühren, was in engerer Beziehung zu unserem Handbuch steht. Die Milch ist reich an Enzymen; sie enthält nach Babcock und Russel (1, 2) und nach von Freudenreich (1) ein koagulierendes und proteolytisches Enzym, die Galactase (s. 9. Kap. d. II. Bds.), nach Raudnitz (1) enthält sie Oxydase und Peroxydase, ferner anscheinend noch fragliche baktericide Substanzen (s. 1. Kap. d. II. Bds.). Von den Pilzen kann es, angesichts ihres sprichwörtlich raschen Wachstums, nicht wundernehmen, daß sie reich an energisch wirkenden Enzymen sind. So enthält die Bierhefe nach Buchner und Hahn (1) Invertase, Maltase, Lipase, Endotryptase, Labenzym (vgl. Rapp [1]), Oxydase, Reduktase, Zymase. Aus *Monilia sitophila* erhielt Went (2) Invertase, Maltase, Trehalase, Raffinase, Diastase, Cytase, Lipase, Trypsin, Labenzym und Tyrosinase.

Invertase und Maltase sind unter den Pilzen weit verbreitet, insbesondere in Hefen und Schimmelpilzen, seltener in Bakterien, erstere z. B. in *Bacillus megaterium*, *Bac. vulgatus*, *Bac. fluorescens*, *Bac. kiliensis*,

Bac. vulgaris. Indem in betreff ausführlicherer Angaben auf das 19. Kapitel des IV. Bandes verwiesen sei, möge hier nur kurz erwähnt werden, daß unter den *Saccharomyces*-Arten die meisten Bier- und Weinhefen beide Enzyme enthalten, hingegen *Sacch. Marxianus, S. exiguus* und *S. Ludwigii* nur Invertase und keine Maltase, *S. anomalus, S. membranaefaciens* und *S. apiculatus* keines von beiden, *Schizosaccharomyces octosporus* wohl Maltase aber keine Invertase. Lactase kommt viel seltener vor (s. 8. Kap. d. II. Bds.) und ist zuerst durch Beijerinck (1) in Kefirhefe nachgewiesen worden. Trehalase (s. 19. Kap. d. IV. Bds.) ist entsprechend der weiten Verbreitung der Trehalose (s. S. 280) bei höheren Pilzen häufig zu finden. Auch ein das Glycogen spaltendes Enzym ist wohl allen den Arten eigen, welche dieses Kohlenhydrat speichern. Inulase wurde von Bourquelot (6) in *Aspergillus niger* nachgewiesen. Diastase fand u. a. Billings (1) bei Schimmel- und anderen Pilzen, sowie bei einigen Bakterien, Macchiati (1) bei einem auf Getreidekörnern parasitierenden Streptococcus. Technisch wichtig ist die Diastase des *Mucor* (*Amylomyces*) *Rouxii* und von *Aspergillus*-Arten, bezüglich deren wir auf das 11. und 22. Kapitel des IV. Bandes und das 13. Kapitel des V. Bandes verweisen. Die Pombehefe ist nach Rothenbach (1) fähig, Dextrin zu spalten (s. 19. Kap. d. IV. Bds.). Unter den Bakterien sind diejenigen hervorzuheben, die nach Omelianski (1) Cellulose auflösen (s. 9. Kap. d. III. Bds.) und dann zu Buttersäure usw. vergären. Ueber Pektinase vgl. das 10. Kapitel des III. Bandes. Grüss (5) wies beim Erreger des Maisbrandes, *Ustilago Maydis*, Enzyme nach, welche Stärke, Inulin und Cellulose lösen, Kohnstamm (1) in *Merulius lacrimans, Armillaria mellea, Polyporus squamosus* neben glycosidspaltenden und proteolytischen auch amylolytische und cellulosespaltende Enzyme. Die holzbewohnenden Pilze (s. 11. Kap. d. III. Bds.) sind nach Bourquelot (7, 10) und Bourquelot und Hérissey (1, 2) reich an Emulsin oder einem diesem ähnlichen Glycosidenzyme. Hérissey (1) fand Emulsin in Flechten und (2) in verschiedenen Pilzen, wie *Gymnosporangium, Pleurotus. Polyporus, Merulius* u. a. Heut (1) stellte ebenfalls in Baumflechten und in einem *Polyporus* das Vorkommen eines Glycosidenzymes fest; solches fehlte jedoch einer untersuchten erdbewohnenden Flechte. Zufolge Bourquelot und Hérissey (1) enthält *Polyporus sulfureus* Invertase, Maltase, Lactase, Trehalase, Inulase, Diastase, Emulsin und Proteasen. Ueber die Hadromase und verwandte Enzyme sind Angaben im 11. Kapitel des III. Bandes zu finden. Ueber die glycosidspaltenden Enzyme im besonderen handelt das 26. Kapitel des I. Bandes. Die Tannase, welche Tannin zu Gallussäure spaltet, wurde gleichzeitig von Fernbach (2) und von Pottevin (1) in *Aspergillus niger* entdeckt. Das Vorkommen von Lipasen ist an Spaltpilzen, insbesondere an pathogenen, von Sommaruga (1) studiert worden. Carrière (1) fand sie im Cholerabazillus. Auch Fäulnisbakterien sind wohl zur Fettspaltung befähigt. In *Penicillium crustaceum* hat sie Gérard (5), in einem Pilze aus der Gruppe der Hypocreaceen Biffen (1) nachgewiesen. Nähere Angaben über Lipasen sind im 12. Kapitel des II. Bandes zu finden.

Die Wirkung von Proteasen ist vielfach in Pilzen beobachtet worden; so die eigenartige Selbstverdauung der Hefe (s. 20. Kap. d. IV. Bds.), und die nach Hahn und Geret (1) auch beim Tuberkelbazillus zu erzielende Selbstverdauung. Unter den Spaltpilzen ist die Fähigkeit, Eiweiß zu lösen, weit verbreitet. Nicht alle aber können natives Eiweiß angreifen; sie bedürfen der Vorarbeit durch andere, so zufolge Pfaund-

LER (1) der *Bacillus coli.* Spaltung der Proteinverbindungen zu Proto- und Deuteroalbumosen, die bei fortschreitender Zersetzung wieder verschwinden, fand z. B. CACACE (1) an *Sarcina aurantiaca*, *Micrococcus aureus* und *Bac. anthracis.* Nähere Angaben über die proteolytischen Enzyme der Bakterien bringen die §§ 30 und 31 des 4. Kapitels des III. Bandes. Die Verwendung der Fähigkeit zur Gelatineverflüssigung als Merkmal für die Unterscheidung der Arten voneinander wird im 22. Kapitel vorliegenden Bandes behandelt werden. Auf das Vorkommen oder Fehlen bestimmter Proteasen ist wohl das Auftreten oder Ausbleiben gewisser Färbereaktionen auf Abbaustufen des Eiweißes zurückzuführen, die für einzelne Bakterienarten spezifisch sind, so die Reaktion auf Indol und Phenol nach LEWANDOWSKY (1) u. a., auf Kreatinin nach ZINNO (1), auf Proteinochrom (Tryptophan) nach ERDMANN und WINTERNITZ (1) usw. Unter den Saccharomyceten sind die gewöhnlichen Hefen reich an Proteasen; näheres darüber im 20. Kapitel des IV. Bandes. Aus höheren Pilzen, insbesondere aus Hutpilzen, haben FERMI und BUSCALIONI (1), HJORT (1) und BOURQUELOT und HÉRISSEY (3) eiweißverdauende Enzyme dargestellt. Die letztgenannten beiden Forscher fanden die Enzyme aus *Amanita muscaria* L., *Boletus edulis* BULL. und *Clitocybe nebularis* BATSCH. am stärksten wirksam. Besonders auffallend ist die Selbstauflösung von Gewebspartien, wie sie bei den Phallineen, und selbst der ganzen Fruchtkörper, wie sie bei der Gattung *Coprinus* zum normalen Entwicklungsgang gehört. Ein Erepsin fanden DELEZENNE und MOUTON (2) im Fliegenpilz, im Champignon u. a. Kinase wies DELEZENNE (1) in Bakterien (*Bac. subtilis*, *B. vulgatus* u. a.) nach. In Gemeinschaft mit MOUTON (1) zeigte er daß dieses Enzym auch in Hutpilzen vorkommt, unter denen der Fliegenpilz und seine giftigen Verwandten sich weit wirksamer als gewisse Speisepilze erwiesen. Nach WARD (2) soll die merkwürdige *Onygena equina* ein keratinspaltendes Enzym absondern; daß solches von Bodenbakterien erzeugt wird, ist zweifellos, doch sind die Arten, bei denen es bemerkt wurde, nicht genau bestimmt.

Auch an Oxydasen sind namentlich die Fruchtkörper der höheren Pilze reich. BOURQUELOT (3) beobachtete an *Lactarius piperatus* ein rasches Verschwinden des Zuckergehaltes (Trehalose und Mannit), wohl infolge Oxydation. In fast jeder der durch BOURQUELOT und BERTRAND (1) darauf geprüften 200 Arten konnte die Anwesenheit von Oxydase nachgewiesen werden, welche der Laccase zwar ähnlich, aber doch auch von ihr verschieden ist. Besonders auffallend sind die durch Oxydasen hervorgebrachten Verfärbungen, die BOURQUELOT (13, 14), BERTRAND (3, 5), FERRY (2) und BOURQUELOT und BERTRAND (1, 2, 3) genauer untersucht haben. Bei gewissen *Boletus*-Arten (*B. cyanescens* BULL., *B. luridus* SCHAEFF. u. a.) färbt sich das Fleisch bei Berührung mit Luft blau; es wird ein blaßgelbliches Chromogen durch die Oxydase in einen dunkelblauen Körper verwandelt, eine Veränderung, die zufolge BERTRAND (5) an die Anwesenheit von Alkali- oder Erdalkalisalzen gebunden ist. Bei anderen Arten, so insbesondere bei *Russula nigricans* BULL., wird durch Oxydation des in ihm enthaltenen Tyrosins zu Homogentisinsäure das Fleisch erst rötlich und dann schwarz. Katalase fand LOEW (1) wie im Pflanzenreich überhaupt so auch bei Pilzen verbreitet. Zymasen dürften sich überall da nachweisen lassen, wo Gärung bezw. intramolekulare Atmung stattfindet.

Es erübrigt, einige Mitteilungen über den **chemischen Charakter**

und die **physikalischen Eigenschaften der Enzyme** anzuschließen. Ersterer ist im allgemeinen noch ziemlich dunkel. Zwar sind viele Enzyme als Eiweißkörper angesprochen worden, und wohl auch mit Recht, indessen läßt sich der exakte Beweis schwer erbringen. Es 5 könnte auch das Enzym in irgend einer Weise (durch Verbindung, Lösung, Adsorption) mit einem Eiweißkörper unauflöslich verkettet sein, ohne selbst Eiweiß zu sein. Die Tatsache, daß Enzyme durch Erhitzen früher oder später (meist zwischen 50 und 80°, manche schon eher) unwirksam werden, spricht nur für ihre Kolloid- und Katalysator-Natur; 10 denn auch anorganische Katalysatoren verlieren bei Siedetemperatur ihre spezifische Fähigkeit, wie u. a. erst in neuester Zeit Porodko (1) für die oxydasische Eigenschaft des Eisenchlorids gezeigt hat. Auch gegenüber Giften zeigen die Enzyme eine merkwürdige Aehnlichkeit mit jenen; vgl. die von Bredig (1) beobachtete „Vergiftung" kolloidalen 15 Platins mittelst Blausäure. Bezüglich der theoretischen Frage, ob wir von „Leben" und „Tod" der Enzyme sprechen dürfen, sei nur das eine gesagt: es gibt auch hierin, wie überall in der Natur, Uebergänge, und jede Grenze ist künstlich. Wir dürfen die Enzyme also nur mit Vorbehalt zu den Eiweißkörpern stellen; mit ihrer Bezeichnung als Abbau- 20 produkte des Eiweiß ist ebenfalls nicht viel gewonnen, weil sich schwer sagen läßt, welche Inhaltsstoffe der Zelle denn nicht aus dem Eiweiß hervorgehen. Versuche, die chemische Natur der Enzyme zu ergründen, sind zahlreich gemacht worden. Danach scheint unter ihnen eine weite Mannigfaltigkeit zu herrschen.

25 Besonders interessant und weiterer Fortführung wert sind die Untersuchungen über Einwirkung eiweißspaltender Enzyme auf andere Enzyme, wie sie von Wróblewski, Bednarski und Wojczyński (1) begonnen wurden: Pepsin und Trypsin schädigen sich gegenseitig; von beiden wird Invertin und Emulsin nicht angegriffen. Diastase wird 30 gar nicht von Trypsin, anscheinend ein wenig von Pepsin geschwächt. Chodat und Bach (3) fanden Pilzoxydase durch Fäulnisbakterien nicht zerstörbar.

Die Invertase erhielt A. Osborne (1) durch fraktionierte Ausfällung als einen Körper mit 44,54 Proz. Kohlenstoff, 6,52 Proz. Wasserstoff und 35 6,1 Proz. Stickstoff, den er für verwandt mit den Peptonen hält. Nach Salkowski (2) wären Osborne's Präparate noch stark mit Kohlenhydraten verunreinigt gewesen; das durch Salkowski selbst hergestellte Invertin hatte höheren Stickstoffgehalt, bis zu 16,86 Proz., war auch stets phosphorhaltig, gab aber keine Eiweißreaktion. Wróblewski (3) befand die 40 Invertase als durch Ammonsulfat nicht aussalzbar, also wohl zu den Proteosen oder Peptonen gehörig. Nähere Angaben über das Invertin der Hefe wird das 19. Kapitel des IV. Bandes bringen. Ein ganz anderer Körper als die Hefeninvertase, viel leichter zerstörbar und darum wohl dem Zellplasma näher verwandt, ist nach E. Fischer und P. Lindner (1) 45 die Invertase von *Monilia candida*.

Die Endotryptase der Hefe wird im 20. Kapitel des IV. Bandes ihre eingehende Betrachtung finden.

Unter den spezifischen Bakterienenzymen ist das Pyocyanolysin aus *Bac. pyocyaneus* ein interessanter und viel umstrittener Körper. 50 Bulloch und Hunter (1) fanden, daß es in Lösung nach 15 Minuten durch Kochen zerstört wird, im Bakterienleib ist es ein wenig widerstandsfähiger. Klimoff (1) konnte es jedoch 30 Minuten lang kochen, Weingeroff (1) sogar auf 120° erhitzen, ohne daß Zerstörung eintrat;

ja, JORDAN (1) fand, daß seine Zuchten nur durch ihre hohe Alkalescenz lösend wirkten, so daß also die Lösungserscheinungen mit dem Enzym selbst gar nichts zu tun hatten. Des letzteren chemische Natur ist also mehr als fraglich. Vgl. darüber auch eine Bemerkung im 20. Kapitel.

Unter den Oxydasen ist die der Essigbakterien, insbesondere von 5 *Bacterium xylinum*, nach HENNEBERG und WILKE (1) kochfest, also wohl kein Eiweißkörper im engeren Sinne des Wortes. Auch CHODAT und BACH (7) erklären ihre Oxydasen für nicht-eiweißartige Körper.

Wohl der in chemischer Hinsicht interessanteste Körper unter den Enzymen ist die Alkoholase. Der Betrachtung dieses Enzymes ist ein 10 besonderes Kapitel, das 17. des IV. Bandes, gewidmet, auf welches hiermit verwiesen sei.

Aehnlich der Alkoholase zeichnet sich die Urease durch hohe Empfindlichkeit gegen chemische Agentien aus. In Ergänzung der auf S. 83 des III. Bandes gemachten Angaben sei hier bemerkt, daß dieses Enzym 15 zufolge MOLL (1) so wie durch Chloroform auch durch Toluol stark geschädigt wird, welche zwei Substanzen von den meisten anderen Enzymen so gut vertragen werden, daß man sie bei den Versuchen vielfach benützt, um bei unbehinderter Enzymtätigkeit die Zellvermehrung zu unterdrücken (s. u.). Andrerseits ist die Urease merkwürdig wider- 20 standsfähig gegen Fluornatrium.

Wohl alle Enzyme, mindestens die Enzyme im engern Sinne, die uns bisher beschäftigt haben, ertragen völlige Austrocknung durch vorsichtiges Eindunsten, durch Ausfällen mit Alkohol, Aether oder dgl., und sind im trockenen Zustande auch weit hitzebeständiger, so daß 25 sie Temperaturen von 100° und selbst darüber einige Zeit überstehen können; das gilt allerdings auch für lebendes Protoplasma, sobald Dauerzustände (Sporen, Pflanzensamen) in Betracht kommen.

Nicht nur Gifte und hohe Temperatur, auch intensives Licht kann Enzyme vernichten; GREEN (1) hat dies an der Diastase festgestellt, 30 und hat zugleich bemerkt, daß die ultravioletten Strahlen stark schaden. EMMERLING (3) prüfte eine größere Reihe von Enzymen und Toxinen und fand Invertase, Maltase, Lactase, Emulsin und Diastase gegen Licht fast unempfindlich. Lab und Hefenmaltase werden jedoch merklich geschwächt, ganz besonders aber die Toxine pathogener Spaltpilze, wie 35 das Diphtherietoxin.

Aus der Tatsache, daß in der Empfindlichkeit gegen allerhand Agentien die Enzyme vom lebenden Protoplasma mehr oder weniger abweichen, ergibt sich die Möglichkeit, die Zellen abtöten zu können, ohne die Enzymwirkung zu vernichten, und andrerseits letztere aufzu- 40 heben, ohne daß die Vermehrung der Zellen aufhört. Letzteres hat bezüglich der Hefe und ihrer Gärtätigkeit schon 1877 NÄGELI (1, S. 27) beobachtet. Fortwirkung von Enzymen in der abgetöteten Zelle hat, ebenfalls für die Hefe, SALKOWSKI (1) nachgewiesen; d. i. die sog. Selbstverdauung der Hefe (s. 20. Kap. d. IV. Bds.), welche in der letzten Zeit 45 auch technisch zur Herstellung von Nährpräparaten (s. 5. Kap. d. V. Bds.) ausgenutzt wird. Abgetötete Hefe mit erhaltener Gärwirkung wurde dann von ALBERT (1) mittelst Alkoholäther, von ALBERT, BUCHNER und RAPP (1) mittelst Aceton gewonnen (s. 17. Kap. d. IV. Bds.). Aehnliches gelang CATHCART und HAHN (1) an reduzierenden Bakterien, aus denen 50 sie wirksame Trockenpräparate herstellten, und BUCHNER und MEISENHEIMER (1) mit Essigsäure- und Milchsäurebakterien, an welch letzteren fast gleichzeitig auch HERZOG (2) die gleiche Beobachtung machte.

MIQUEL (1) tötete Harnstoffbakterien bei 55°, wonach die Urease sich noch als wirksam erwies.

Mit ihrem mehr oder weniger eiweißartigen Charakter steht die relative Fähigkeit der Enzyme, zu filtrieren und zu diosmieren, in engem 5 Zusammenhang. Wir müssen diese zwei Vorgänge trennen. Denn nach der sich mehr und mehr Bahn brechenden Anschauung beruht die Diosmose nicht auf dem Durchdringen durch vorgebildete, ultramikroskopische Poren hindurch, sondern auf einem Zustand der Lösung in der Substanz der zu durchdringenden Membran. Nur so wird es ver- 10 ständlich, wenn so vielfach größere Moleküle diosmieren, während kleinere zurückgehalten werden. Natürlich wird es demgemäß bei Versuchen sehr auf die Art der verwendeten Trennungswand (Haut, Papier u. dgl.) ankommen. Der **Filtrierung** durch sehr dichte Filter, Kieselgur, Porzellan etc., setzen die meisten Enzyme keinen wesentlichen Wider- 15 stand entgegen; doch kommen auch hier Unterschiede vor. Einzelheiten darüber findet man u. a. bei FERMI und PERNOSSI (1) angegeben. Die Alkoholase wird besonders stark zurückgehalten; jedoch kann nach ALBERT und BUCHNER (1) deren Filtrierbarkeit durch Zusatz von Glycerin wesentlich erhöht werden, wie das für andere Enzyme FERMI 20 und PERNOSSI festgestellt haben. Das Glycerin wirkt überhaupt günstig auf viele Enzyme ein, GRÜSS (1) gewann mit dessen Hilfe wirksame Diastaseauszüge, GESSARD (4) eine Monate lang haltbare Tyrosinase. Bezüglich der **Diosmose** durch geschlossene Häute liegen einige Beobachtungen vor, so die von WRÓBLEWSKI (3) über Invertase, welche in 25 geringem Grade durch Pergamentpapier geht. Vielen Enzymen fehlt aber die diosmotische Fähigkeit, wie nach HAHN und GERET (2) der Hefenendotryptase, ferner der Alkoholase, u. a. m., überhaupt wohl den Endoenzymen (vgl. o. S. 267), während alle Ectoenzyme ja notwendigerweise befähigt sein müssen, Plasmahaut und Zellwand zu durchwandern, 30 ob aber gerade auch Pergamentpapier oder tierische Blase, ist nicht von vornherein gewiß. Für gelatineverflüssigende Schimmelpilzenzyme hat A. HANSEN (1) nachgewiesen, daß sie Collodiumschichten zu durchdringen vermögen.

§ 66. Giftstoffe.

35 Schon bei Betrachtung der Eiweißkörper war von einigen giftigen Substanzen die Rede, welche zu jenen deutliche Beziehungen verraten; ihre Wirkung andrerseits erinnert an die gewisser Enzyme, so daß eine scharfe Grenze, wie anderwärts in der Natur, so auch hier sich nicht ziehen läßt. Denn auch die in den nächsten Zeilen zu besprechenden 40 Körper sind zweifellos Reste gespaltener Eiweißkörper und als solche selbstredend auch mittelbar Erzeugnisse einer Synthese. Solche Stoffe kommen allenthalben in den Lebewesen vor und können, wie etwa in höheren Pflanzen Farbstoffe oder Alkaloide, den sie erzeugenden Organismen einen gewissen Nutzen bringen. Eine solche biologische 45 Bedeutung ist jedoch den Pilzgiften kaum zuzuschreiben; höchstens dürften die Fäulnisbakterien durch Entwicklungshemmung ihrer Mitbewerber und manche Pflanzenparasiten durch Abtötung der Wirtszellen einigen Vorteil genießen, die eigentlichen „Giftpilze“ haben von ihrer Giftigkeit gar keinen Nutzen.

50 Die Fäulnisalkaloide oder Ptomaine und die komplizierter

gebauten Toxine sollen im 4. Kapitel des III. Bandes, bei Behandlung der Eiweißfäulnis, eine eingehendere Erörterung erfahren. Deswegen begnügen wir uns hier mit dem Hinweis, daß jene Körper wohl durchweg Spaltprodukte des spezifischen Bakterieneiweißes, nicht der dargebotenen Nahrung, sind; der genaue Beweis hierfür wäre allerdings für 5 die Mehrzahl der Einzelfälle noch zu erbringen. Praktisch wie theoretisch gleich interessant ist die von WEIL (1) beobachtete Tatsache, daß gewisse Bakterien (nur zwei Arten unter einer größeren, darauf hin geprüften Anzahl) fähig sind, aus dem Eiweiß der Kartoffelknollen Solanin in größeren Mengen abzuspalten, als dasselbe unter normalen Verhält- 10 nissen in den Kartoffeln enthalten ist. Die erzeugten Solaninmengen sind groß genug, um eine echte Solaninvergiftung hervorrufen zu können. Hier freilich ist das Solanin wohl direkt als Spaltprodukt aus der Nahrung, nicht aus dem Bakterieneiweiß, hervorgegangen. Das wohl auch zu den Ptomainen gestellte Trimethylamin $(CH_3)_3N$, dessen Vor- 15 kommen im Mutterkorn angegeben wird, ist nach BRIEGER (2) nicht von Natur darin enthalten, sondern entsteht erst bei der Präparation; wohl aber findet es sich in verschiedenen Brandpilzen, so im Stinkbrand des Weizens (*Tilletia Caries* TUL.), dem es den charakteristischen, widerwärtigen Geruch verleiht. 20

Den Ptomainen nahe verwandt ist der Giftstoff des Fliegenpilzes, *Amanita muscaria* (L.) PERS., das Muscarin, als „Alkaloid" im Jahre 1869 von SCHMIEDEBERG und KOPPE (1) gewonnen, sieben Jahre später von SCHMIEDEBERG und HARNACK (1) synthetisch dargestellt, und zwar durch Oxydation des Cholins $(C_5H_{15}NO_2)$ mittelst Salpetersäure. 25 Dem Muscarin kommt die Formel $C_5H_{15}NO_3$ zu, seine Konstitution (s. Bd. III, S. 111) ist aber noch strittig. Außer in Pilzen ist das Muscarin auch als Fäulnisprodukt nachgewiesen worden. Neuerdings gewinnt jedoch, namentlich im Hinblick auf das verschiedenartige Vergiftungsbild, die Anschauung Raum, daß das Pilz-, das Fäulnis- und das 30 künstliche Muscarin drei verschiedene, vielleicht isomere Körper seien. Das Pilz-Muscarin ist außer im Fliegenpilz auch in dem wegen seiner Aehnlichkeit mit dem Champignon besonders gefährlichen Knollenblätterschwamm oder Giftchampignon (*Amanita phalloides* FR.) und in *Amanita pantherina* Quel., in Spuren auch im Hexenpilz (*Boletus luridus* SCHAEFF.) 35 von R. BÖHM (1) gefunden worden, in letzteren beiden neben wenig Cholin. Es kann indessen nach neueren Untersuchungen keinem Zweifel mehr unterliegen, daß an Pilzvergiftungen das Muscarin verhältnismäßig unschuldig ist. HARMSEN (1) berechnet, daß zur Vergiftung eines Menschen etwa 4 kg frischer Fliegenpilze nötig wären, wenn dem Muscarin jene 40 Wirkung zugeschrieben werden sollte; auch weist er darauf hin, daß Muscarin- und Fliegenpilz-Vergiftung ganz verschiedene Symptome zeigen, daß erstere durch Atropingaben rasch beseitigt wird, während gegen letztere Atropin ganz wirkungslos ist, usw. Wahrscheinlich ist das eigentliche Gift ein Eiweißkörper von ziemlich labilen Eigenschaften. 45 Man kann es aus dem Rückstand des Alkoholauszuges, in welchem das Muscarin gelöst ist, mit Wasser aufnehmen, und erhält die gleichen Vergiftungserscheinungen wie mit dem frischen Pilz. Auch ist reines Muscarin (cit. nach HUSEMANN-HILGER [1, S. 292]) nicht tödlich für Fliegen; diese Eigenschaft hat jedoch der frische Fruchtkörper. Ganz 50 ähnlich wie mit dem Fliegenpilz verhält es sich zufolge KOBERT'S (5) Untersuchungen mit dem Giftchampignon, dessen Auszug stark hämolytische Eigenschaften zeigt; das einigermaßen rein dargestellte Gift löst

noch in Verdünnung von 1:100000 rote Blutkörperchen auf. FERRY und SCHMIDT (1) fanden das Gift dieses Pilzes in verdünntem Weinessig löslich; durch Kochen wird es nicht zerstört. Längst bekannt und in neuerer Zeit von V. GILLOT (1) bestätigt ist die Beobachtung, wonach 5 die Bilder der Vergiftung durch die beiden verbreitetsten *Amanita*-Arten (*A. muscaria* und *A. phalloides*) ausgesprochen verschiedener Art sind, was auch auf Verschiedenheit der wirkenden Substanzen schließen läßt.

Von Giftstoffen größerer Pilze ist sonst nur noch die zweiwertige Helvellasäure, aus der schwarzen Speisemorchel, *Gyromitra (Helvella) esculenta* 10 (FR.) PERS., näher bekannt, auch diese nur in ihrer Elementar-Formel, $C_{12}H_{20}O_7$ nach BÖHM und KÜLZ (1), nicht hinsichtlich ihrer Konstitution. Sie ist in Alkohol löslich und sehr flüchtig, so daß schon durch siedendes Wasser oder durch Trocknen des Pilzes jede Spur davon verloren geht.

Im übrigen ist unsere Kenntnis von Giftpilzen und Pilzgiften noch 15 ein sehr dunkles Gebiet; selbst über die giftigen Arten herrscht noch keine volle Uebereinstimmung. Viele angeblich giftigen Pilze dürften sich als unschädlich erweisen. Einer der in dieser Hinsicht meist umstrittenen Pilze ist der dem gemeinen Pfifferling ähnliche, seltnere *Cantharellus aurantiacus* WULF., der von den einen Beobachtern als unbedingt 20 giftig, von anderen hingegen als zweifellos unschädlich hingestellt wird. Das gleiche gilt vom *Boletus satanas* LENZ. u. a. Näheres zu dieser Frage findet man bei HENNING (1, S. 113) kurz zusammengestellt. Von verschiedenen Seiten, so von FEUILLEAUBOIS (1), wird betont, daß selbst die gleiche Art Schwankungen im Giftgehalt je nach Klima und Stand- 25 ortsverhältnissen zeigen könne. Nach INOKO (1) ist in Japan der Pantherschwamm (*Amanita pantherina*) weit giftiger als der dort ziemlich unschädliche Fliegenpilz, welcher von manchen Völkern Ostsibiriens als berauschendes Mittel genossen wird. Auch wird behauptet, daß sehr junge Fruchtkörper vom Giftchampignon eßbar seien, während andrer- 30 seits ältere Exemplare vom Steinpilz und anderen Speisepilzen angeblich Vergiftungserscheinungen hervorrufen sollen. Es ist das vielleicht durch einen hier später, dort früher eintretenden Eiweißzerfall im Fruchtkörper zu erklären; jedenfalls harren hier noch zahlreiche Fragen der Antwort. An dem Steinpilz und anderen teils eßbaren, teils als giftig bekannten 35 Pilzen hat DUPETIT (1) beobachtet, daß ihr Saft einen für Warmblüter, nicht aber für Frösche, bei Einführung ins Blut tötlichen, enzymartigen Stoff enthalte: in der eßbaren *Amanita rubescens* PERS. sei außerdem ein für Frösche tötliches Alkaloid oder Glycosid enthalten. Zufolge einer Mitteilung von X. GILLOT (1) gelang es Phisalix, mit dem Saft von 40 Fliegenpilzen, Giftreizkern (*Lactarius torminosus* SCHAEFF.), Champignons und Trüffeln Versuchstiere gegen Viperngift immun zu machen, woraus wohl auf das Vorkommen identischer oder nahe verwandter toxischer Substanzen geschlossen werden darf.

Kein anderer Pilzkörper ist so häufig auf seinen Inhalt und ins- 45 besondere auf seine Giftstoffe untersucht worden als das **Mutterkorn**, *Secale cornutum* der Apotheken, das Sklerotium (s. S. 178 und 212) des Pyrenomyceten *Claviceps purpurea* FR. Dennoch herrscht gerade hier noch große Unklarheit und Uneinigkeit. Nur soviel scheint gewiß, daß das Mutterkorn echte Alkaloide in des Wortes engerem, jetzt all- 50 gemein gebräuchlichem Sinne enthält, und damit wäre es der einzige Pilz, in welchem bisher das Vorkommen solcher mit Sicherheit bekannt ist. Die wirksamen Substanzen verdienen unser Interesse sowohl wegen der Verwendung des Mutterkorns in der Geburtshilfe (daher sein Name),

als auch wegen der unter dem Namen „Kriebelkrankheit“ bekannten Erscheinungen, welche das Sklerotium, wenn es, als Verunreinigung des Getreides, in das Mehl gelangt ist, hervorrufen kann. Die besonders in feuchten Jahren auftretende Krankheit ist in zivilisierten Ländern selten geworden, seit Reinigungsverfahren für das Getreide eingeführt sind. Geschichtliches über die Erscheinung bringt Schmack (1). Der wirksame Bestandteil des Mutterkorns ist nach Tanret (1, 2) das Ergotinin ($C_{35}H_{40}N_4O_6$), in langen, farblosen Nadeln kristallisierend, in Wasser unlöslich, in Alkohol selbst bei Siedehitze nur wenig, in Aether hingegen leicht löslich. Auffallend ist das starke Drehungsvermögen $\alpha_D = + 334$ bis 336^0. Eine charakteristische Reaktion ist die nach Behandeln mit Essigäther und Schwefelsäure eintretende, zuerst orangerote und dann bald über Violett in Blau übergehende Färbung. Kobert (1) aber beschreibt als den wesentlichsten Giftstoff das Cornutin, von unbekannter Zusammensetzung, in Wasser und Aether unlöslich, in Alkohol, Chloroform und fetten Oelen löslich, daher im ausgepreßten Oel des Mutterkorns gelöst enthalten. Neben jenem sollen noch die glycosidartige, stickstoffhaltige Ergotinsäure, und die stickstoffreie, alkohollösliche Sphacelinsäure, beide von sonst unbekannter Zusammensetzung, vorkommen. Das Ergotinin Tanret's erklärt Kobert (4) für unwirksam gewordenes Cornutin. Ganz anders stellt Jacoby (1) die Sache dar. Er gewann als die wirksame Substanz ein in Aether lösliches Pulver von der Zusammensetzung $C_{21}H_{22}O_9$ und von phenolartigem Charakter, das Chrysotoxin, das nach längerem Stehen in alkalischer Lösung auf Salzsäurezusatz sich in die unwirksame Ergochrysinsäure umwandelt, die als ziegelroter Niederschlag ausfällt. Wird die ätherische Lösung unreinen Chrysotoxins mit Essigsäure ausgezogen, so geht in diese ein stickstoffhaltiger Körper, Secalintoxin ($C_{13}H_{24}N_2O_2$), über, welcher die gleiche Wirkung wie Chrysotoxin ausübt. Aus der ätherischen Lösung fällt Petroläther einen zweiten Körper, das physiologisch unwirksame Secalin ($C_{29}H_{35}N_6O_{14}$). Chrysotoxin wie Secalintoxin verdanken ihre eigenartige Wirkung einem noch nicht dargestellten, stickstoffreien Körper, dem Sphacelotoxin, das in ihnen in chemischer Bindung enthalten ist. Brissemoret (1) kritisiert wiederum die Angaben Jacoby's, der mit teils verunreinigtem, teils zersetztem Ergotinin gearbeitet habe. Quantitativ ist nach älteren Angaben das wirksame Alkaloid mit 0,05 bis 0,27 Proz. in der Droge enthalten. Die kleinere *Claviceps microcephala* Wallr., auf *Molinia coerulea* L. und anderen Gräsern, ist nach Hartwich (2) mehrmals reicher daran, enthält davon bis zu 0,8 Proz. Der Alkaloidgehalt des Mutterkorns nimmt, bis zum völligen Verschwinden, ziemlich bald ab. Nach übereinstimmenden Angaben von Bischofsberger (1), Meulenhoff (1) u. a. ist jedoch die gut getrocknete und vor Feuchtigkeit geschützte Droge Jahre hindurch unzersetzt haltbar. Der Alkaloidverlust beruht also entweder auf einer unmittelbaren Lebensäußerung oder auf einer Enzymtätigkeit, worin übrigens kein grundsätzlicher Unterschied liegen würde. Das von E. Schulze und Bosshard (1) entdeckte Alkaloid Vernin ($C_{16}H_{20}N_8O_8$) ist spurenweise in verschiedenen Pflanzen, am reichlichsten aber, bis zu 0,1 Proz., im Mutterkorn nachgewiesen worden. Beim Erhitzen mit Salzsäure spaltet es Guanin ab. Ueber die Nachweisung von Mutterkorn in Mehl und Brot bringt das 25. Kapitel des II. Bandes einige Angaben.

Von einer Reihe anderer pflanzenbewohnender Pilze ist wohl bekannt, daß sie durch Verfüttern an das Vieh Vergiftungen hervorrufen

können, die Giftstoffe selbst sind aber noch zu untersuchen. Ein wenig weiß man vom Ustilagin der *Ustilago*-Arten, das von Rademaker und Fischer (1) aus dem Maisbrand dargestellt und als ein alkaloidartiger Körper erkannt wurde. Es ist in Wasser und in Aether löslich, stark bitter, wird durch Jodkaliumquecksilberjodid ausgefällt und löst sich in konzentrierter Schwefelsäure mit dunkler, allmählich in ein intensives Grün übergehender Farbe. Fälle von Vergiftung sind bekannt (zusammengestellt nach Tereg und Arnold [1]): von *Ustilago segetum* Bull. und *U. longissima* Tul., welch letztere, auf *Glyceria*-Arten wachsend, nach einer Angabe von Eriksson (1) nur frisch (und nicht mehr im Heu) giftig wirkt, weiter vom Weizenbrand, *Tilletia Caries* Tul., unter den Rostpilzen von *Uromyces Rumicis* Schum., *U. betae* Pers., *U. Genistae tinctoriae* Pers., *U. Medicaginis falcatae* DC., *Puccinia graminis* Pers., *P. Rubigovera* DC., *P. coronata* Cda., *P. caricis* Schum., *P. flosculosorum* Alb. et Schw., *P. Phragmitis* Schum., *P. sessilis* Schneider, schließlich von den Pyrenomyceten *Phyllachora Trifolii* Fuck., dem Erreger der Kleeschwärze, und *Leptosphaeria napi* Fuck. samt ihrer Konidienform *Polydesmus exitiosus*, dem „Rapsverderber". Isoliert sind die Giftstoffe dieser Pilze noch nicht. *Uromyces viciae*, von welcher Ostermann (1) einen Vergiftungsfall berichtet, ist wohl *U. Orobi* Pers..

Den Pilz, der die besonders in Ussurien, Südost-Sibirien, öfters wiederkehrende Vergiftung durch den **Taumelroggen** hervorruft, suchte Woronin (1) vergeblich zu bestimmen. Prillieux und Delacroix (1, 2) erkannten zuerst das eigenartige *Endoconidium temulentum* als die Ursache der Erscheinung, und bald darauf gelang es ihnen, die Schlauchform, *Phialea temulenta*, zu züchten. Der Giftstoff ist noch zu untersuchen. Die Vergiftung wird als ähnlich der durch den **Taumellolch,** *Lolium temulentum* L., bewirkten geschildert. In dem Gifte dieses Grases, dessen Samen das von F. Hofmeister (1) näher untersuchte Temulin enthalten, eine wasserlösliche Base von starker Alkalität, die ihren Reaktionen nach der Pyridinreihe angehört und mit Salzsäure die Verbindung $C_7H_{12}N_2O \cdot 2\,HCl$ eingeht, haben wir gewiß ebenfalls ein Pilzgift zu sehen, seit wir durch die Untersuchungen von Vogl (1), Hanausek (1), Nestler (1), M. P. Guérin (1) und Neubauer (1) wissen, daß gerade das genannte Gras, wie das nächst verwandte *Lolium remotum* Schrk. ganz regelmäßig in ihren Samen einen Pilz beherbergen, der, ohne die Keimfähigkeit zu beeinträchtigen, in den äußersten Gewebsschichten sein Mycel ausbreitet, aber die Fähigkeit zur Sporenbildung völlig verloren zu haben scheint; Näheres darüber im 21. Kapitel des II. Bandes.

Zu den Giftpilzen müssen wir aber auch die Hefen zählen, da bereits Oser (1) im Jahre 1869 ein Alkaloid ($C_{18}H_{20}N_4$) als Produkt der alkoholischen Gärung nachgewiesen hat. Später isolierte Morin (1) aus Spiritus eine Base ($C_7H_{10}N_2$), deren Giftwirkung von Wurtz (1) an Tieren erprobt wurde. Das spurenweise Vorkommen eines Alkaloids im Wein hat auch G. Guérin (1) bestätigt.

Zu erwähnen wären ferner die Beobachtungen von J. Behrens (1) über die Obstfäulnis, denen zufolge *Botrytis cinerea* Pers., *Rhizopus nigricans* Ehrnbg., *Penicillium luteum* Zuk. und *Oidium fructigenum* Link. Gifte absondern, welche die Zellen der befallenen Früchte töten und durch Kochen nicht zerstört werden. Nähere Angaben darüber sind im 2. und im 5. Abschnitte des V. Bandes zu finden. Nordhausen (1) hat besonders festgestellt, daß die bezeichnete Wirkung von *Botrytis* nicht durch ausgeschiedene Oxalsäure ausgeübt wird. Von Schimmelpilzen

enthalten die pathogenen Aspergillus-Arten *A. fumigatus* de Bary und *A. flavescens* nach Ceni und Besta (1) stark giftige Stoffe in ihren Sporen, aus denen jene mit Alkohol oder Aether ausgezogen werden können, jedoch nicht auch im Mycel. Mit *Penicillium crustaceum* L. konnte Zippel (1) keinerlei Vergiftungserscheinungen an Versuchstieren hervorrufen, und pathogene Mucorineen wirken zufolge Barthelat (1) nur traumatisch, nicht toxisch. Ueber giftige Substanzen in Flechten bringt der § 69 einige Bemerkungen.

§ 67. Kohlenhydrate.

Von den einfachen Zuckern, den **Monosacchariden**, sind in Pilzen Pentosen noch kaum nachgewiesen, außer in den Nucleinen (s. S. 249); vielleicht kommen sie in den holzbewohnenden Pilzen vor.

Die verbreitetsten Hexosen, Glucose und Lävulose, finden sich vielfach, meist als Uebergangsprodukte, in geringen Mengen. Als sehr zuckerreich, und außer den beiden eben genannten noch eine dritte reduzierende Substanz enthaltend, schildern Ráthay und Haas (1) die zerfließende Gleba von *Phallus impudicus* L., die von Fliegen eifrig besucht wird; die Beziehung zur Sporenverbreitung ist unverkennbar. Aehnlich verhält es sich mit der *Sphacelia*-Form (s. S. 213) des Mutterkorns. Den cyklischen Zucker Inosit ($[CHOH]_6 + 2\,H_2O$) fand Marmé (1) in größerer Menge im *Lactarius piperatus* Scop. In geringerem Verhältnis kommt er öfters vor, nach Nägeli und Loew (1) auch in der Bierhefe. Vielleicht spielt er eine wesentliche Rolle beim Uebergang der Hexosen zu aromatischen Verbindungen, was aus der Gegenüberstellung der Formeln leicht erhellt:

```
       HOH                        HOH
        C                          C
       / \                        / \
  HOHC     CH2OH             HOHC     CHOH
     |                          |      |
  HOHC     COH               HOHC     CHOH
       \ /                        \ /
        C                          C
       HOH                        HOH
     Glucose.                    Inosit.
```

Die sehr weite Verbreitung des Inosits im Tier- und Pflanzenreich, bei meist nur geringer Menge, macht seine Aufgabe als Uebergangsstufe höchst wahrscheinlich.

Noch weit verbreiteter als die genannten Stoffe, namentlich in größeren Mengen in Pilzen (Fruchtkörpern) vorhanden, ist der sechswertige Alkohol Mannit ($CH_2OH \cdot [CHOH]_4 \cdot CH_2OH$) der nach Strohmer (1) mit Glucose zusammen 20 Proz. vom Trockengewicht des Steinpilzes ausmacht; daneben fanden sich noch 25 Proz. durch Diastase invertierbare Kohlenhydrate, vermutlich Glycogen (vgl. u.). Ferry (1) konnnte bei 90 Proz. der von ihm untersuchten Pilze Mannit nachweisen. Auch Bourquelot (1, 2) fand ihn vielfach, so im *Elaphomyces cervinus* Schröt. zu 20 Proz., in *Russula adusta* Pers. zu über 23 Proz., usw.

Eine eigenartige, zuckerähnliche Substanz ist der von Bourquelot (1) im Brätling (*Lactarius volemus* Fries) entdeckte Volemit ($C_7H_{16}O_7$);

seine Darstellung beschreibt BOURQUELOT (12). Dieser, dem Mannit verwandte Körper ist schwach süß, in Alkohol kaum löslich, schwach rechts drehend, reduziert nicht FEHLING'sche Lösung und wird auch durch Kochen mit Säure nicht in reduzierenden Zucker umgewandelt. — Er 5 kristallisiert in weißen, zerbrechlichen, zu Kügelchen angeordneten feinen Nadeln, aus heißem Alkohol in mannitähnlichen, wasserfreien Prismen. Der Volemit ist durch Hefe nicht vergärbar und gibt kein Osazon. Er wird nach E. FISCHER (3) durch Oxydation mittelst Salpetersäure oder Brom zu Volemose ($C_7H_{14}O_7$) oxydiert, wohl derselben Substanz von 10 Ketoncharakter, welche BERTRAND (5) durch Oxydation mittelst des *Bacterium xylinum* erhalten hatte. Der Volemit wurde, nebenbei bemerkt, von BOUGAULT und ALLARD (1) auch in verschiedenen Primulaceen nachgewiesen.

Von **Disacchariden** ist aus Pilzen nur eines bekannt geworden, die 15 zuerst in der Trehala-Manna entdeckte Trehalose, ein Disaccharid der Glucose. Die gleiche Substanz wurde von WIGGERS (1) und MITSCHERLICH (1) im Jahre 1857 im Mutterkorn gefunden und Mycose benannt; später dann wurde der letzteren Idendität mit der Trehalose aus Trehala-Manna festgestellt. Ihre Verbreitung im Pilzreich ist sehr allgemein; über 20 ihr Vorkommen, ihre Umwandlung in Mannit oder Glucose und den dadurch bedingten allmählichen Verbrauch im reifenden Fruchtkörper verdanken wir namentlich BOURQUELOT (1, 2, 3, 4, 8, 9) eine Reihe von Arbeiten; eine ausführliche Tabelle ist in JUST's Botanischem Jahresbericht für 1893, Bd. 21, S. 176 abgedruckt. Der Prozentgehalt ist sehr schwankend und, wie 25 bemerkt, im gleichen Fruchtkörper nicht konstant; er kann bis zu 10 Proz. vom Trockengewicht ansteigen, bewegt sich aber in der Regel zwischen 5 und 1 Proz. oder noch darunter. Der Trehalose kommt die Formel $C_{12}H_{22}O_{11} + 2H_2O$ zu, die auch ihr Molekulargewicht richtig ausdrückt. Sie reduziert FEHLING'sche Lösung nicht und scheint ein achtwertiger 30 Alkohol zu sein, der keine Aldehydnatur mehr zeigt. Sie bildet große, gut ausgebildete, glasglänzende, rhombisch-prismatische Kristalle, die nach SCHUKOW (1) bei 94—97,5° C schmelzen. Die optische Drehung gibt dieser Forscher zu $\alpha_D = +178,3°$ an, für das Anhydrid mit $+197,1°$. In den Zellen der Hefe kommt sie aller Wahrscheinlichkeit nach nicht 35 vor. Um sie in Pilzsäften nachzuweisen, empfiehlt BOURQUELOT (5), ein Glasplättchen mit einem Trehalosekristall zu reiben und auf die geriebene Stelle einen Tropfen des zum Sirup eingedickten Saftes zu bringen; alsbald findet Kristallisation in charakteristischer Weise statt, wenn der in Rede stehende Zucker in der Probe vorhanden ist.

40 Unter den **Polysacchariden** beansprucht vor allen eines unser Interesse, nämlich das Glycogen, das im Jahre 1855 von CL. BERNARD (1) entdeckt wurde. Es stellt einen sehr wesentlichen Vorratsstoff des Tierkörpers („tierische Stärke") dar, welcher sich hauptsächlich in der Leber angehäuft findet (daher der Name Leberstärke), aber auch aus 45 Muskelfleisch, Knorpeln und allerlei anderen Organen dargestellt worden ist. Das Glycogen bildet im reinen Zustande ein amorphes, farbloses, hygroskopisches und selbst bei äußerst geringem Wassergehalt sich allmählich zersetzendes Pulver. Mit Wasser verquillt es zu einer opalisierenden Pseudolösung, die höchstens 1 Proz. an Substanz aufnimmt. 50 Diese Lösung ist nicht dialysierbar und stark rechtsdrehend (vgl. u.). Mit schwacher Jodlösung färbt sich das Glycogen intensiv braunrot. Diese Reaktion ist insbesondere auch für den mikroskopischen Nachweis von Wert, da bisher keine andere Substanz bekannt geworden ist,

welche eine solche Reaktion gibt und also mit diesem Kohlenhydrat verwechselt werden könnte. Besonders charakteristisch ist das Verschwinden der braunen Färbung beim Erwärmen (vgl. u.). Das Glycogen ist wohl ein polymeres Anhydrid der Glucose von der Zusammensetzung $(C_6H_{10}O_5)_x$. GAUTIER (1) allerdings behauptet, durch Hydrolyse ein Gemisch verschiedener reduzierender Zuckerarten erhalten zu haben, verschieden je nach der Herkunft des Glycogens. Das Molekulargewicht wird auf etwa 30000 geschätzt. Bezeichnend ist die große Widerstandsfähigkeit gegen Alkalien; es wird durch tagelanges Sieden in 36proz. Kalilauge nicht angegriffen. Im Organismus scheint es häufig an Eiweiß gebunden zu sein. Es tritt hier nicht, wie die Stärke, in geformten Körnern sondern in anscheinend halbflüssigen Tröpfchen als kolloidale Lösung auf, welche aber manchmal den gesamten übrigen Zellinhalt überdecken können. Zu näherer Orientierung über die Physiologie und sonstigen Eigenschaften des Glycogens, seine höchst schwierige Darstellung usw. sei auf die ausführliche Monographie von E. PFLÜGER (1) verwiesen. Das Eintreten der zuvor beschriebenen Jodreaktion in Pilzzellen war bereits im Jahre 1851 von TULASNE (1) in den jungen Schläuchen der Trüffeln und einige Jahre später (2) in denen des Ahornmehltaues (*Erysiphe Aceris* DC.) beobachtet und auf einen jodspeichernden Eiweißkörper gedeutet worden. Die richtige Vermutung, daß die von ihm regelmäßig in den Schläuchen als Umhüllung der Sporenanlagen gefundene Substanz, für welche er den Namen Epiplasma vorschlug, wesentlich aus einem Kohlenhydrat bestehe, sprach im Jahre 1863 DE BARY (1) aus. Nachdem KÜHNE (1) das Glycogen in dem Schleimpilz *Fuligo varians* (*Aethalium septicum*, Lohblüte; vgl. S. 245) nachgewiesen hatte, gelang es ERRERA (1) in DE BARY's Laboratorium, zu zeigen, daß der wesentlichste Bestandteil des Epiplasmas auch nichts anderes ist als Glycogen, und dasselbe damit auch als wichtigen und weitverbreiteten Voratsstoff im Reiche der echten Pilze hinzustellen. Grünen Pflanzen fehlt es durchaus. Später fand es ERRERA (2, 3) auch in der Bierhefe, in verschiedenen Ascomyceten, weiter bei Basidiomyceten und Phycomyceten; nur den Rostpilzen (Uredineen) scheint es zu fehlen. Weitere Bestätigung bzw. neue Beiträge brachten dann DE BARY (2), KRAFKOFF (1), LAURENT (1) u. a. Auch in Bakterien kommt es zufolge A. MEYER (1, 2) vor, ist aber auf wenige Arten, wie *Bacillus asterosporus*, beschränkt. CLAUTRIAU (1) bestimmte dessen Menge im Steinpilz zu 20 Proz., im Fliegenpilz zu 14 Proz., in Bierhefe zu mehr als 31 Proz. des Trockengewichtes. Dem letztgenannten Forscher danken wir auch eine genauere Vergleichung des tierischen (aus Kaninchenleber und aus Austern dargestellten) mit dem Pilzglycogen, durch welche sich die auffallende Tatsache herausgestellt hat, daß das aus dem Steinpilz (*Boletus edulis*), dem Fliegenpilz (*Amanita muscaria*) und dem *Phallus impudicus* gewonnene Glycogen mit dem tierischen sehr genaue Uebereinstimmung, das Hefenglycogen hingegen geringe, aber doch deutliche Unterschiede erkennen läßt. Das letztere zeigt in Lösungen schwächere Opalescenz, färbt sich mit Jod in gleicher Gabe viel dunkler und mehr rotviolett als das braunrot werdende Glycogen jener drei Hutpilze und der genannten Tiere. Auch verblaßt die Jodfärbung in letzteren Fällen bereits bei Temperaturen von 58 bis 60°, die des Hefenglycogens hingegen erst bei Erwärmung auf 72—73° C. HARDEN und YOUNG (1) haben ebenfalls Vergleiche zwischen beiden Glycogenen angestellt und auch die Drehung ein wenig verschieden gefunden: für Hefenglycogen $\alpha_D = +198{,}3^\circ$, für tierisches Glycogen aber

$\alpha_D = + 191{,}1$ bis $191{,}2^{\circ}$. CREMER (1) hat den Nachweis geführt, daß das Hefenglycogen bei der Hydrolyse nur Glucose liefert. Die Physiologie des Hefenglycogens wird im 4. Kapitel des IV. Bandes eingehend behandelt werden; vgl. auch die Angaben betreffend das Hefengummi auf 5 S. 232 vorliegenden Bandes.

Wahrscheinlich dem Glycogen sehr nahe verwandt ist der mit Jod sich bläuende Inhaltsstoff des *Bacillus amylobacter* VAN TIEGH. und anderer, ihm ähnlicher Spaltpilze, den man als Granulose (s. S. 107) bezeichnet findet, ausgehend von der Meinung, er sei mit der Stärke identisch. 10 A. MEYER (3) schlug dafür den Namen Iogen vor, welcher den Vorzug hat, hinsichtlich der Identität zu nichts zu verpflichten. Durch einige Reaktionen, insbesondere gegen Diastase, wollte A. MEYER (1) die Uebereinstimmung mit Amylose (von Granulose spricht man heute auch hinsichtlich der Stärkekörner überhaupt nicht mehr) nachgewiesen haben. 15 Er hat diese Meinung aber inzwischen selbst aufgegeben. Das Verhalten des Iogens gegen Kalilauge spricht nicht für Gleichheit mit dem Amylum. Eine engere Beziehung zu den im § 59 beschriebenen jodbläuenden Membranstoffen besteht gewiß ebenfalls nicht. Die Dinge, die BELZUNG (1) als „amidons" in Tabellenform zusammengestellt hat, 20 sind recht verschiedenartiger Natur.

Die von H. LUDWIG (1) aus *Elaphomyces cervinus* SCHROET. dargestellten Körper Mycodextrin und Mycoinulin dürften ebenfalls dem Glycogen recht nahe verwandte Substanzen gewesen sein. Auch die von CRAMER (2) in *Penicillium*-Sporen zu 17 Proz. vorgefundenen 25 invertierbaren Kohlenhydrate gehören wohl hierher.

Als eigenartige Inhaltskörper erwähnen wir schließlich die schon auf S. 156 genannten Cellulinkörner des *Leptomitus lacteus* AGARDH, welche wohl chemisch den Cellulosemodifikationen beizuzählen sind.

Ausführliche Angaben und Literaturnachweise über die hier be- 30 sprochenen Kohlenhydrate findet man bei TOLLENS (1) und E. v. LIPPMANN (2).

An die Kohlenhydrate wären die Glycoside anzuschließen. Solche sind indessen, wenn wir von den teilweise dazu gehörigen Gerbstoffen (vgl. § 71) absehen, bisher in Pilzen kaum gefunden worden. Möglich, 35 daß die von Bakterien in Milch und Käse, von Schimmelpilzen in faulendem Obst erzeugten, oder die in manchen Hutpilzen, wie im *Boletus felleus* BULL., vorkommenden, stark bitter schmeckenden Substanzen zu den Glycosiden zu stellen sein würden, wenn ihre chemische Natur bekannt würde.

40 § 68. Fette, höhere Alkohole und verwandte Körper und organische Säuren.

Verbreitet in Pilzen und Bakterien finden sich als Reservestoff, wohl auch als Sekret, Fette, freie Fettsäuren und Cholesterine. Daß der Gehalt an einem Reservestoff, wie CRAMER (1) nachgewiesen hat, 45 je nach den Lebensbedingungen Schwankungen unterliegen kann, ist nicht zu verwundern. Im Pneumoniebazillus fand dieser Forscher 10,3 Proz. Aether-Alkohol-Extrakt, wenn jener auf Peptonagar gewachsen war, hingegen 22,7 Proz., wenn dem Nährboden noch 5 Proz. Traubenzucker beigefügt worden waren. Von den Cholesterinen ist zurzeit nur eines aus Pilzen genauer bekannt, nämlich das von TANRET (3) im Mutter-

korn entdeckte Ergosterin, $C_{26}H_{39}OH + H_2O$. Es bildet farblose Kristalle, welche in heißem Alkohol, Aether, Chloroform usw. löslich sind und bei 154° schmelzen, während der Schmelzpunkt für tierisches Cholesterin (aus Gallensteinen) zwischen 145 und 148,5°, für die Phytosterine aus höheren Pflanzen zwischen 131° und 139°, und nur für wenige von diesen bei 148°—159° liegt. Wenn in den nachfolgenden Angaben von Cholesterin gesprochen wird, dürfte meist Ergosterin oder ein verwandter Körper vorliegen. Nicht selten sind auch Lecithine nachgewiesen worden. Es sind dies Glyceride von Fettsäuren (im typischen Lecithin je ein Molekül Stearin- und Palmitinsäure) in esterartiger Bindung mit Phosphorsäure und Cholin. Es kommt ihnen die Formel $(O \cdot R)(O \cdot R') : C_3H_5 \cdot O \cdot PO(OH) \cdot O \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot N(CH_3)_3 \cdot OH$ zu, worin R und R′ je einen Fettsäurerest vorstellen.

Unter den **Spaltpilzen** ist ganz besonders der Tuberkelbazillus durch Fettreichtum ausgezeichnet, was wohl Hammerschlag (1) zuerst festgestellt hat; doch wird dessen zahlenmäßige Angabe von späteren Untersuchern noch übertroffen. Derselbe Forscher (2) stellt als wesentliche Bestandteile des bei 63° schmelzenden Fettes dieses Spaltpilzes Tripalmitin und Tristearin auf. In verschiedenen Zuchten fanden de Schweinitz und Dorset (1) 39,29 bzw. 37,57 Proz. Aether- und 3,04 bzw. 4,44 Proz. Alkoholextrakt; das Fett bestünde nach ihnen wesentlich aus Glyceriden der Palmitin- und Arachinsäure. Ruppel (1) fand 26,5 Proz. Neutralfette und Wachsarten, wesentlich aus Oel-, Palmitin- und Stearinsäure bestehend, daneben zwei dem Cerylalkohol ($C_{27}H_{55} \cdot OH$) und dem Myricylalkohol ($C_{30}H_{61}OH$) ähnliche Alkohole vom Schmelzpunkt 79° bzw. 85°. Kresling (2) ermittelte den Fettgehalt dieses Bazillus zu 38,01—39,73 Proz. Der Chloroformauszug ist eine im Aussehen und Geruch dem Bienenwachs ähnliche Masse; er enthält 14,38 Proz. freie Fettsäuren, 77,25 Proz. Neutralfette und Fettsäureester, 39,10 Proz. aus den Estern abspaltbare höhere Alkohole vom Schmelzpunkt 43,5—44°, 0,16 Proz. Lecithin und Spuren von Cholesterin. Besonders fetthaltig fand Sata (1) die Rasen des *Actinomyces;* das Fett wurde nur qualitativ mittelst des von A. Meyer (1, 2) empfohlenen Farbstoffes Sudan III nachgewiesen. Für den gleichen Zweck hat Meyer (3) ein Verfahren eingeführt, durch Naphtholblau in statu nascendi **Fett nachzuweisen,** d. i. blau zu färben, indem er das Objekt nacheinander mit Dimethylparaphenylendiaminchlorhydrat in einprozentiger alkoholischer Lösung und mit einer Auflösung von α-Naphthol in einprozentiger Sodalösung behandelt; leider sind die Reagentien wenig haltbar, doch die Färbung selbst ist sehr scharf. Der Rotzbazillus enthält zufolge de Schweinitz und Dorset (1) nur 7,78 Proz., nach Kresling (1) 25,75 Proz. Fett. Die beiden erstgenannten Forscher erhielten wesentlich Olein- und Palmitinsäure, letzterer neben Lecithin und Cholesterin hauptsächlich Oelsäure. In Fäulnisbakterien (nicht näher bestimmter Art) fand Schaffer (1) 6,04—7,89 Proz. Fett, ohne nähere Kennzeichnung. Nishimura (1) wies in seinem Wasserbazillus Nr. 28, neben Spuren von Cholesterin, Oel-, Palmitin- und Stearinsäure nach. A. Meyer (1, 2) schildert den *Bac. tumescens* Zopf als besonders fettreich. Eine dem Ergosterin ähnliche Verbindung erhielt Gérard (4) in sehr geringer Ausbeute aus dem *Micrococcus pyogenes* Mig.

Während unter den Bakterien anscheinend eine ausgiebige Glycogen- und Fettbildung niemals in einer Art vereinigt sind, so daß also das Vorkommen des einen oder des anderen Reservestoffes als Erkennungs-

merkmal von Wert ist (vgl. z. B. GOTTHEIL [1]), speichert die **Hefe** neben Glycogen auch Fett auf, nach NÄGELI und LOEW (1) etwa 5 Proz. Auch hier ist der Gehalt sehr wechselnd, denn GUICHARD (1) fand nur 1,4 Proz. davon. Zufolge GÉRARD und DAREXY (1) besteht das Hefenfett wesentlich und 5 zu annähernd gleichen Teilen aus Stearin- und Palmitinsäure, mit wenig Buttersäure. HINSBERG und ROOS (1) haben neuerdings dem Gegenstand eine genauere Untersuchung gewidmet. Die von ihnen benutzte Hefe enthielt nur 2,3—2,8 Proz. ihres Trockengewichtes an Fett. In diesem konnten drei verschiedene Säuren nachgewiesen werden, erstens eine 10 Säure $C_{15}H_{30}O_2$, bei 56° schmelzend, eine gesättigte Fettsäure, mit keiner der bekannten identisch, löslich in Alkohol und Aether, wenig löslich in Eisessig, Methyläther und Petroläther, mit Calcium und Baryum unlösliche Salze gebend, zweitens eine Säure $C_{12}H_{22}O_2$, ungesättigt, Brom addierend und, wie die folgende, ein lösliches Bleisalz gebend, und drittens 15 eine Säure $C_{18}H_{34}O_2$, möglicherweise mit Oelsäure identisch, bei 12 mm Druck zwischen 210 und 220° C siedend. Daneben fand sich ein Cholesterin, $C_{26}H_{43}OH + H_2O$, bei 159° schmelzend, linksdrehend, von SCHULZE's hochschmelzendem Caulosterin aber sicher verschieden. GÉRARD (3) führt als Unterschied zwischen dem Hefencholesterin und dem 20 tierischen Cholesterin den folgenden an: das letztere gibt, in Kohlenstofftetrachlorid gelöst, auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure eine klare gelbe Flüssigkeit; nach Beifügung von Wasser tritt milchweiße Trübung ein, und das ausfallende Chlorür ist farblos. Eine gleiche Lösung von Hefencholesterin hingegen wird mit Schwefelsäure 25 blutrot, auf Wasserzusatz wird ein lebhaft grünes Chlorür gefällt. Den Schmelzpunkt des Hefencholesterins befand GÉRARD zu 135—136° C, die optische Drehung $\alpha_D = -105°$. Lecithin ist in der Hefe zuerst durch HOPPE-SEYLER im Jahre 1866 nachgewiesen und später daraus in der Menge von 0,3 Proz. vom Trockengewicht dargestellt worden. 30 SEDLMAYR (1) bezeichnet es als Dipalmitincholinlecithin und als schwierig vom Eiweiß zu trennen, wohl mit solchem zu Lecithalbumin verbunden; nach ihm kann Hefe bis zu 2 Proz. enthalten.

Den Fettgehalt der Mycelien von **Schimmelpilzen** geben NÄGELI und LOEW mit 0,53—11,25 Proz. an, je nach dem Nährboden; nach vier 35 Wochen langem Wachstum auf 1-proz. Phosphorsäurelösung war jedoch der Fettgehalt auf 50,5 Proz. gestiegen. SIEBER (1) wies 11,19 bis 18,70 Proz. Aetherextrakt nach. MARSCHALL (1) ermittelte für *Aspergillus* 4,7, für *Penicillium* 4,1 und für *Rhizopus nigricans* 8,0 Proz. solchen Extraktes. ASO (1) erhielt aus *Aspergillus*-Sporen nur 0,377 Proz. Aether- 40 extrakt. Danach scheinen die Sporen der Schimmelpilze wie die der Bakterien sehr fettarm zu sein, denn selbst die Zahl von 7,34 Proz., die CRAMER (2) für *Penicillium*-Sporen angibt, ist nicht sehr hoch. Die letzteren enthalten dafür größere Mengen von Kohlenhydraten. Ergosterin hat GÉRARD (2) auch aus *Penicillium crustaceum* dargestellt, mit 45 einem Schmelzpunkt von 135° und einem starken optischen Drehungsvermögen $\alpha_D = -143° 3'$, ferner (3) aus *Mucor mucedo* L. und aus dem Flechtenpilz *Lobaria pulmonacea* (*Sticta pulmonaria* ACH.).

Sehr reich an Fett ist das Sklerotium des **Mutterkornes.** Zufolge PALLADINO (1) enthält es bis zu 30 Proz. fettes Oel vom spezifischen 50 Gewicht 0,9263, dessen schwer verseifbare Fettsäuren zwischen 38,2 und 39,5° schmelzen. Genaue analytische Daten findet man bei MJOEN (1). Aufschluß über die Natur der Fettsäuren gibt eine durch ZECH (1) angestellte Untersuchung. Dieser zufolge enthält das Mutterkorn Oel-

säure ($C_{18}H_{34}O_2$), Erucasäure ($C_{22}H_{42}O_2$), Brassidinsäure ($C_{22}H_{42}O_2$) und Myristinsäure ($C_{14}H_{28}O_2$); die Schmelzpunkte der vier Säuren liegen bei 14°, 34°, 56°, 54° C. Von dem durch TANRET gerade in diesem Sklerotium entdeckten Ergosterin war bereits oben die Rede. 5

Der Lärchenschwamm (*Polyporus officinalis* FRIES) bildet den Gegenstand einer durch SCHMIEDER (1) vorgenommenen, eingehenden Untersuchung. Dieser zufolge besteht das fette Oel des Pilzes aus einem Cholesterin ($C_{26}H_{43}OH + H_2O$), einem Körper von der Zusammensetzung des Cetylalkohols ($C_{16}H_{33}OH$), zwei Kohlenwasser- 10 stoffen ($C_{22}H_{46}$ und $C_{29}H_{54}$), bei 45° bzw. 126° schmelzend, und fünf verschiedenen flüssigen Fettsäuren, deren eine als Ricinolsäure ($C_{18}H_{34}O_3$) bestimmt wurde; nebst diesen fand sich ein in Benzin löslicher, kristallisierbarer Körper ($C_{10}H_{16}O$), wohl ein Alkohol, vor. Eine Fettsäure $C_{15}H_{30}O_2$ isolierte THÖRNER (2) aus dem Täubling (*Russula integra* FR.); 15 aus Alkohol kristallisiert sie in büschelig angeordneten Nädelchen, deren Schmelzpunkt bei 70° liegt. Aus dem *Lactarius piperatus* gewannen CHODAT und CHUIT (1) in weißen Kristallen eine Säure $C_{15}H_{30}O_2$, die als Lactarsäure bezeichnet wurde; sie macht bis zu 7,5 Proz. des Trockengewichtes aus. In der gleichen Pilzart fand GÉRARD (1) den 20 Fettgehalt zu 4,73 Proz. Im *Lact. vellereus* FRIES wies derselbe Forscher bis zu 4,27 Proz. Fett nach, bestehend aus Olein- und Stearinsäure, teils frei, teils als Glycerid, neben Ameisen-, Essig- und Buttersäure; außerdem fand sich ein Ergosterin und sehr viel Lecithin vor, so zwar, daß auf 100 g Fett 1,72 g wasserfreie Phosphorsäure entfielen. Das Fett 25 von *Pisolithus arenarius* ALB. et SCHW. (syn. *Polysaccum Pisocarpium* FR.) besteht nach K. FRITSCH (1) aus Glyceriden der Ameisen-, Essig- und Buttersäure nebst einer höheren Fettsäure; in genanntem Pilz, wie im Steinpilz und im Pfifferling wurden auch Cholesterin und Lecithin nachgewiesen. Als fettreich schildert C. v. TUBEUF (1) das Mycel des Haus- 30 schwammes (s. 11. Kap. d. III. Bds.). Große Mengen von Fett enthalten auch die kalkbewohnenden Krustenflechten, in denen es von ZUKAL (1) als Vorratsstoff, von FÜNFSTÜCK (1, 2) als Sekret gedeutet wird.

Ueber sonstige organische Säuren ist hier wenig mehr zu sagen, weil diejenigen von ihnen, welche als Gärungsprodukte aufzu- 35 fassen sind, an den entsprechenden Stellen des Handbuchs abgehandelt werden sollen, weil von den höheren Fettsäuren soeben die Rede war, und die Flechtensäuren und die Gerbsäuren in den folgenden §§ 70 und 71 ihre Besprechung finden werden. Wohl die verbreitetste aller Säuren unter Bakterien und Pilzen ist die Oxalsäure (COOH·COOH), 40 deren Auftreten in Bakterien besonders von ZOPF (10) und BANNING (1) beschrieben wurde. Auch in Schimmelpilzmycelien und in Fruchtkörpern höherer Pilze ist sie vielfach beobachtet worden, meist in Gestalt von Kristallen ihres Calciumsalzes (s. S. 154 und 155); auch in freiem Zustande kommt sie nach PATOUILLARD (1) bei verschiedenen Arten vor. 45 Zufolge einer Angabe von ERRERA (4) besteht das „pain du ciel", der Thallus der Flechte *Lecanora esculenta* EVERSM., zu 57,93 Proz. aus Calciumoxalat. Von anderen Säuren sind Bernsteinsäure im Pfefferschwamm durch CHODAT und CHUIT (1), und im Lärchenschwamm durch SCHMIEDER (1), und Weinsäure, Aepfelsäure und Oxalsäure im 50 Pfifferling durch FRITSCH (1) vorgefunden worden. Des weiteren sind bekannt (cit. nach ZOPF [2]): Fumarsäure aus einer Reihe von Speisepilzen, darunter Trüffel, Champignon, Schwarzmorchel (*Gyromitra*), sowie

aus dem Fliegenpilz. Aepfelsäure und Citronensäure sind ebenfalls nicht selten. Essigsäure kommt in *Phallus*-, in *Cantharellus*- und *Hydnum*-Arten vor. Propionsäure enthält der Fliegenpilz, Milchsäure die Schwarzmorchel und das Mutterkorn, das letztere auch Ameisensäure. Weinsäure findet sich in einigen Flechten. In der Regel sind die genannten Säuren an Kali oder an Kalk gebunden. Ueber die giftigen Säuren im Mutterkorn und über die Helvellasäure sind schon im § 66 einige Angaben gemacht worden.

§ 69. Farbstoffe, ausschließlich der Flechtenstoffe.

Unter den Pflanzenfarbstoffen ist es einer, der sich in weitester Verbreitung findet, gerade dem Reich der Pilze aber fehlt, die man eben dieses negativen Merkmales wegen (s. S. 203) zu einer großen Gruppe zusammenfaßt: es ist das Chlorophyll im engeren Sinne oder Cyanophyll, der Träger der Kohlenstoffassimilation in der grünen Pflanzenzelle. Zwar hat van Tieghem (1) chlorophyllgrüne Bakterien beschrieben. Es ist jedoch recht fraglich, ob nicht ein anderer grüner Farbstoff oder ob nicht Algen aus der Gruppe der einzelligen Chlorophyceen vorgelegen haben; man vergleiche die Kritik von Dangeard (1, 2). Die Purpurbakterien hingegen enthalten zufolge der Untersuchungen von Engelmann (1) tatsächlich in dem Bacteriopurpurin einen Stoff, der physiologisch dem Chlorophyll gleichwertig sein dürfte. Jenes zeigt ein charakteristisches Absorptionsspektrum, mit Bändern in der Nähe der Linien *D*, *E* und *F* und einem im Ultrarot; nähere Angaben über diesen Farbstoff bringt das 8. Kapitel des III. Bandes.

Die Purpurbakterien gehören nach der von Beijerinck (2) aufgestellten Einteilung zu den chromophoren Bakterien; ihr Farbstoff gehört zum Zellinhalt und spielt im Leben der Zelle eine wesentliche Rolle. Den Gegensatz zu ihnen bilden die chromoparen Spaltpilze, die den Farbstoff nach außen abgeben. Wenn wir auch solche ausgeschiedene Substanzen hier unter den Inhaltskörpern behandeln, so möge man bedenken, daß sie ja alle innerhalb der Zelle entstehen, und daß ein chemischer Unterschied darin nicht liegt, ob ein Stoff innerhalb oder außerhalb der Zelle abgelagert wird.

Wie das Chlorophyll, so fehlt auch der typische Blütenfarbstoff Anthocyan sämtlichen Pilzen. Wenn Pilzgallen, wie die von F. Ludwig (1) beschriebenen Synchytriumgallen der *Anemone nemorosa*, Anthocyan enthalten, so ist es die grüne Pflanze und nicht die Pilzzelle, welche den Farbstoff hervorbringt.

In weitester Verbreitung findet sich dagegen bei Bakterien und Pilzen eine Gruppe von Farbstoffen, die zu den unentbehrlichen Bestandteilen fast aller höheren Pflanzen zählt und selbst im Tierreich noch vorkommt, das ist das **Carotin** oder besser die Carotine, Körper, die in neuerer Zeit durch F. G. Kohl (1) eine umfassende monographische Bearbeitung erfahren haben. Man hat die hierher gehörigen Substanzen wohl auch als **Fettfarbstoffe** oder **Lipochrome** bezeichnet, weil sie in der Regel an Fett gebunden oder richtiger in Fett bzw. in Cholesterinen gelöst vorkommen. Doch sind sie auch in freiem Zustande bekannt und sind selbst nicht fettartiger Natur, aber chemisch und ihrer Entstehung nach den Cholesterinen verwandt. Das Carotin im engeren Sinne, der Farbstoff der Möhre (*Daucus carota* L.), ist ein ungesättigter

Kohlenwasserstoff von der Zusammensetzung $C_{26}H_{38}$. In Benzollösung ist das Molekulargewicht doppelt oder dreimal so groß. Als farbiger Kohlenwasserstoff hat es nur noch einen seinesgleichen, das ist das Dibiphenylenäthen ($C_{26}H_{16}$). Das Carotin addiert leicht Halogene und gibt mit Jod dunkelgrüne, kupferglänzende Kristalle von der Formel $C_{26}H_{38}J_2$. Es ist löslich in Alkohol und in allen Fettlösungsmitteln, wie auch in fetten und ätherischen Oelen. Die Lösungen in Schwefelkohlenstoff, Kohlenstofftetrachlorid und Chloroform sind blutrot. Eisessig löst nur beim Erwärmen rasch. Wasser, wie auch verdünnte Säuren und Alkalien, lösen nicht, Glycerin und verdünnter Alkohol wenig und langsam. Einige auffallende Farbreaktionen sind folgende: Konzentrierte Schwefelsäure löst mit tiefblauer Farbe; auf Wasserzusatz entsteht dann ein flockiger, grüner Niederschlag. Konzentrierte Salpetersäure löst hellblau; die Farbe geht in Indigoblau über und verblaßt zu Gelblich. Konzentrierte Salzsäure löst trüb grünbraun bis trübblau. Trockene schweflige Säure färbt indigoblau, wässerige hingegen kaffeebraun. Brom erzeugt ein rasch verblassendes Blau, Jodjodkali eine tiefgrüne Färbung. Die Kristalle des Carotins sind rhombische Tafeln von ca. 61,8° Neigungswinkel und etwas pleochroitisch; sie schmelzen bei 166,5—169° C, also bei weit höherer Temperatur als die höchstschmelzenden Phytosterine (vgl. § 68). Sehr ausgesprochen ist die Verwandtschaft zum Sauerstoff, von dem bis 21 Proz. vom Gewichte der sauerstoffreien Substanz aufgenommen werden. Durch diese Eigenschaft mag das Carotin, wie viele andere Farbstoffe auch, der Zelle als Sauerstoffüberträger dienen. Oft ist es aber auch Vorratsstoff, wie z. B. in den Sporen von *Mucor*, *Pilobolus* und anderen Pilzen, die es bei der Keimung verbrauchen. Infolge der Sauerstoffaufnahme wird aber das Carotin rasch zerstört, jedoch nicht oder doch keinesfalls allein durch das Licht bei Sauerstoffabschluß, wie GERLACH (1) bewiesen hat. Carotin, welches sich mit Sauerstoff beladen hat, ist in Alkohol leichter, in Schwefelkohlenstoff schwerer löslich als vorher. Nach KOHL ist das Carotin aus der Möhre identisch mit dem gelben Bestandteil im alkoholischen Auszug vom Rohchlorophyll, mit dem Xanthophyll, ferner mit dem Etiolin verdunkelter („vergeilter") Pflanzentriebe und dem verbreitetsten gelben Blütenfarbstoff, dem Anthoxanthin, und einer Reihe von Pilz- und Bakterienfarbstoffen. Es gibt aber auch carotinartige Körper, die Sauerstoff enthalten, dunkler bzw. röter gefärbt sind und auch spektroskopisch sich unterscheiden, worauf zuerst ZOPF (7) aufmerksam gemacht hat. KOHL stellt diese Sauerstoff-Carotine als **Carotinine** den **Eucarotinen** gegenüber. Die ersteren haben Säurecharakter und gehen mit Basen salzartige Verbindungen ein. Spektroskopisch sind die Eucarotine durch zwei Absorptionsbänder gekennzeichnet, eines auf der Grenze von Grün und Blau, bei der Linie *F*, das andere im Blau, zwischen *F* und *G*; bei den roten Carotininen liegen beide Absorptionsbänder im Grün. Die Verbreitung beiderlei Substanzen unter den niederen Organismen wie auch deren chemische und spektroskopische Eigenschaften haben besonders BACHMANN (1, 3) und ZOPF (1, 3, 4—8) eingehend untersucht. Eucarotine finden sich u. a. in höheren Pilzen wie *Polystigma rubrum* DC. und *P. fulvum* DC., *Nectria cinnabarina* TODE, *Calocera viscosa* PERS., *Dacryomyces stillatus* N. v. E., *Ditiola radicata* FRIES, in Spaltpilzen wie *Sphaerotilus roseus* ZOPF, *Bacterium egregium* ZOPF, *B. chrysogloea* ZOPF, ferner nach VON SCHRÖTTER (1) in *Sarcina aurantiaca* FLÜGGE und in *Micrococcus aureus* (ROSENBACH).

Rotfarbige Carotinine besitzen *Micrococcus erythromyxa* Zopf, *M. rhodochrochus* Zopf, welchen Overbeck (1) genauer beschrieben hat, *Polystigma rubrum* und *Nectria cinnabarina*. Die letztgenannten beiden Eumyceten enthalten also je ein Carotin und ein Carotinin neben- 5 einander. Carotine sind ferner gefunden worden: in Arten von *Mucor* und *Pilobolus*, hier besonders in Sporangien und Sporen; bei Arten von *Peziza*, *Ascobolus* und Verwandten, *Spathularia* und *Leotia*. Die Fruchtlager, besonders Aecidien und Uredolager der Rostpilze, sind häufig durch in Oeltropfen gelöstes Carotin lebhaft gefärbt, so bei *Gymno-* 10 *sporangium*, *Uromyces*, *Puccinia*, *Melampsora* u. a. Schließlich ist auch eine Flechte, *Baeomyces roseus* Pers. als carotinhaltig zu nennen.

Alle anderen Pilzfarbstoffe sind chemisch noch so wenig charakterisiert, daß an eine Einteilung nach chemischen Gesichtspunkten noch nicht gedacht werden kann.

15 Von den Bakterienfarbstoffen ist der blutrote des *Bacillus prodigiosus* Flügge, **das Prodigiosin,** am häufigsten untersucht worden, zuerst durch J. Schroeter (1), dann von Schneider (1), Kraft (1) u. a. Es ist in Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol und Schwefelkohlenstoff löslich, in verdünntem Alkohol wenig, in Wasser nicht löslich. Die Farbe 20 der alkoholischen Lösung wird zufolge Bordoni-Uffreduzzi (1) sowohl durch Alkalien wie durch Säuren nur wenig verändert, wird durch letztere sogar lebhafter, im Gegensatz zu dem ihm äußerlich ähnlichen Fuchsin, welches übrigens nach Kraft fünfzigmal intensiver färbt als jenes. Das Spektrum zeigt eine sehr charakteristische Absorption 25 zwischen den Linien 66 und 70 und von 70 ab eine Verdunkelung, blau und violett sind vollständig ausgelöscht; in sehr konzentrierten Lösungen dringt die Auslöschung weiter nach links vor. Griffiths (1) schreibt dem Prodigiosin die Formel $C_{38}H_{56}NO_5$ zu, welcher Befund 2,3 Proz. Stickstoff entspricht. Kraft fand hingegen einen Stickstoffgehalt von 30 3,9 Proz., in der Asche Chlor, Phosphor, Natrium und Eisen. Nach Samkow (1) bleibt die Farbstoffbildung aus, wenn im Nährboden Magnesium fehlt; solches ist jedoch im Farbstoff selbst nicht enthalten. Rosenberg (1) entdeckte die starke Färbbarkeit verkorkter Zellmembranen durch Prodigiosin, weshalb es als Reagens in die botanische 35 Mikrotechnik Aufnahme gefunden hat; vgl. auch Strasburger (1). Auch Wolle und Seide nehmen das Prodigiosin an. Es ist jedoch, wie die meisten Bakterienfarbstoffe, so wenig lichtbeständig, daß seine Verwendung in der Technik ausgeschlossen ist. Gelegentlich sei bemerkt, daß Matruchot (1, 2) lebende Zuchten eines *Bac. violaceus* zum Färben des 40 Protoplasmas im lebendigen Zustande verwendet.

Prodigiosin ist, außer bei dem *Bac. prodigiosus*, noch bei keinem anderen Spaltpilz und in keinem anderen Organismus wieder gefunden worden, wohl aber kennt man eine Anzahl von Bakterien, die ähnliche Farbstoffe erzeugen. Es sind dies: der von Lustig (1) entdeckte *Bac.* 45 *fuchsinus* Mig., wohl identisch mit dem unter gleichem Namen von Boekhout und Ott de Vries (1) beschriebenen, dann der *Bac. kiliensis* Mig., weiters der *Bac. Plymouthensis* Mig., wie auch der von Petrow (1) aufgefundene *Bac. subkiliensis* u. a. Die Farbstoffe dieser und der meisten anderen Arten zeigen in ihren Löslichkeitsverhältnissen ganz 50 ähnliche Eigenschaften wie das Prodigiosin, sind aber in ihren chemischen Reaktionen von einander verschieden. P. Schneider (1) hat die Farbstoffe von 32 Spaltpilzarten chemisch und spektroskopisch untersucht und damit neue und sichere Merkmale der Speziesunterscheidung angegeben;

denn nach unserer bisherigen Kenntnis hat hier (vgl. aber demnächst das über fluoreszierende Bakterien Gesagte) jede Art ihren besonderen Farbstoff. Die wichtigsten dieser Reaktionen sind auch bei MIGULA (1 u. 2) an den entsprechenden Stellen wiedergegeben.

Eine große Zahl von Spaltpilzen ist durch fluoreszierende 5 Farbstoffe ausgezeichnet und zum Teil danach benannt. THUMM (1) hat deren zwölf Arten untersucht und bei allen den gleichen Farbstoff gefunden. Nach HOFFA (1) könnte der (auf Zusatz von Ammoniak) fluoreszierende Körper ein Eiweißstoff sein, wenn nicht etwa bloß an Eiweiß gebunden (?). Als „tyrosinartig" stellen GUIGNARD und SAUVAGEAU (1) 10 den in erbsengrünen Nadeln im Nährboden auftretenden Farbstoff des *Bac. chlororaphis* hin.

Der Farbstoff des *Bac. cyaneo-fuscus* scheint nach BEIJERINCK (1) einheitlicher Art zu sein, trotz der verschiedenen Färbungen, welche die Kolonien nach und nach annehmen; chemisch soll er dem Indigo angeb- 15 lich nahe verwandt sein. Als eigenartig sei noch der schwarze Farbstoff eines von BIEL (1) beobachteten Spaltpilzes erwähnt, welcher sich als in keinem Mittel löslich und gegen Säuren wie gegen Alkalien unveränderlich zeigte.

Es kann hier nicht auf die äußerst zahlreichen Bakterienfarbstoffe, 20 welche alle Farben des Regenbogens, dazu Schwarz und verschiedene braune Töne umfassen, im einzelnen eingegangen werden, zumal über deren chemische Natur so gut wie nichts bekannt ist. Weitere Angaben über Farbbakterien findet man bei CATHELINEAU (1), CHAMOT und THIRY (1), CLAESSEN (1), NEELSEN (1), SMITH (1), SYMMERS (1), VIRON (1), WARD (1). 25

Häufig auch bildet ein Spaltpilz mehrere Farbstoffe; so *Bact. Erythromyxa* MIG. nach OVERBECK (1) neben rotem Carotinin einen gelben wasserlöslichen Stoff. Der *Bac. pyocyaneus* der Autoren (*Pseudomonas aeruginosa* MIG.) erzeugt nach BABES (1, 2) drei verschiedene Farbstoffe: das azurblaue, chloroformlösliche Pyocyanin und zwei fluoreszierende 30 Körper, nämlich einen alkohollöslichen, der im durchfallenden Licht grün und im zurückgeworfenen blau erscheint, und einen nur wasserlöslichen, dunkelorange mit blaugrüner Fluoreszenz. Man vgl. jedoch THUMM's (1) Befunde im § 38 des 14. Kapitels sowie auch BOLAND (1) und GESSARD (1, 2, 3).

Wie viele künstliche Farbstoffe, und wie es oben vom Carotin be- 35 merkt wurde, zeigen auch viele sonstige Bakterienfarbstoffe eigenartige Beziehungen zum Sauerstoff. So soll nach CHRISTOMANOS (1) das Pyocyanin erst durch Autoxydation an der Luft aus einer Leukosubstanz hervorgehen. Der braune Farbstoff des *Bact. brunneum* MIG., welchem THORPE (1) die Zusammensetzung $C_{18}H_{14}O_8$ zuschreibt, hat zufolge PFEFFER (2) die 40 Eigenschaft, Luftsauerstoff zu speichern. Ganz besonders stark zeigt nach LINOSSIER (1) der aus den Sporen von *Aspergillus niger* mit sehr verdünnter Ammoniaklösung ausgezogene Farbstoff Aspergillin die Erscheinung der Sauerstoffspeicherung, weshalb jener Forscher ihn geradezu als „hématine végétale" bezeichnet. Die Asche der schwarzen, 45 amorphen Substanz besteht größtenteils aus Eisenoxyd (vgl. § 58). Der rote Farbstoff des *Bac. kiliensis* wird nach SCHNEIDER (1) durch nascierenden Wasserstoff rasch entfärbt; an der Luft kehrt jedoch die rote Farbe bald wieder. Der *Bac. subkiliensis* PETROW's (s. S. 288) zeigt die letztere Erscheinung nicht, sein Farbstoff bildet sich an der Luft 50 nicht zurück. Derjenige des *Bac. prodigiosus* erleidet bei jener Behandlung überhaupt keine Entfärbung.

Die rosaroten und schwarzen Farbstoffe von Hefenarten sind chemisch

noch unbekannt; über die pathologische Erscheinung der „blauen Hefe" vgl. MARPMANN (1).

Unter den höheren Eumyceten sind färbende Substanzen sehr verbreitet; es gibt wenige Pilze, bei denen nicht irgend ein Teil, bei 5 Schimmel- und Schmarotzerpilzen häufig die Sporenwandung, gefärbt wäre. In jenen Fällen, in denen der Farbstoff die Sporenmembran durchtränkt, ist seine Trennung von letzterer überhaupt noch nicht geglückt. Die Farbstoffe von Hutpilzen sind oft den Hyphen äußerlich aufgelagert, zuweilen in Kriställchen, so z. B. zufolge THÖRNER (1) der hydrochinon-10 ähnliche Farbstoff des *Paxillus atrotomentosus* BATSCH. Als ein Anthrachinonderivat bezeichnet FRITSCH (1) den schwarzbraunen Farbstoff des *Pisolithus arenarius* ALB. et SCHW. (*Polysaccum* FR.); es ist ein amorpher, in Eisessig, Aceton, Alkohol, Kalilauge, Ammoniak, Schwefelsäure und auch in Wasser löslicher Körper, mit 62,22 Proz. Kohlenstoff, 15 4,2 Proz. Wasserstoff und 33,61 Proz. Sauerstoff. Der in sandigen Kiefernwäldern stellenweise häufige Pilz hat seines Farbstoffes wegen eine beschränkte technische Verwendung gefunden. Zu den Anthrachinonen gehört vielleicht auch das Sklererythin des Mutterkorns; vgl. darüber HUSEMANN-HILGER (1, S. 299) und HARTWICH (1). Aus dem Fliegenpilz 20 erhielt GRIFFITHS (2) eine neben dem (bisher fast nur spektroskopisch untersuchten) roten Farbstoff des Hutes vorhandene grüne, ätherlösliche Substanz $C_{29}H_{20}O_{10}$.

Boletol nennt BERTRAND (6, 7) die von ihm und gemeinsam mit BOURQUELOT (2) untersuchte Substanz, die in *Boletus cyanescens* BULL., 25 *B. luridus* SCHAEFF. u. a. vorhanden und blaßgelblich ist, aber an der Luft durch Oxydasenwirkung (vgl. § 64 und 65) rasch in Dunkelblau übergeht. Es ist ein Phenolabkömmling von Säurecharakter, bildet rote Kristalle, erscheint in Lösung rot, beim Verdünnen gelb; seine Salze mit Alkalien oder Erdalkalien jedoch sind tief blau.

30 Auch die Fruchtkörper der Pilze enthalten oft mehrere Farbstoffe, so nach ZOPF (8) der *Polyporus sanguineus* FR. deren drei, *Cortinarius cinnabarinus* FR. vier, wovon einer der in Flechten vorkommenden Physcinsäure ähnlich ist. Ja demselben Forscher (7) zufolge enthält *Bulgaria inquinans* sogar deren sechs. Im übrigen sei auf die Zusammenstellung 35 bei ZOPF (2, S. 413 bis 433) verwiesen. Ueber farbige Flechtenstoffe vgl. § 70, über gefärbte Harze den § 71. Der als „Ang-Khak" verwendete Farbstoff des *Monascus purpureus* WENT wird im 4. Abschnitt des IV. Bandes besprochen werden.

§ 70. Flechtenstoffe.

40 Als solche faßt man eine Reihe von säureartigen Körpern (daher auch die Bezeichnung Flechtensäuren) zusammen, welche entweder selbst farbig sind oder farbige Salze bilden und sich in Flechten finden, meist in Kriställchen der Zellmembran aufgelagert. Ihr Vorkommen ist bald ein streng spezifisches, bald umfaßt es mehrere verwandte Arten 45 oder auch eine größere Anzahl miteinander nicht näher verwandter, ist aber auch von klimatischen und Standortsverhältnissen abhängig. Die chemische Zusammensetzung ist sehr verschiedenartig. Wir können hier nur das Wichtigste darüber bringen und verweisen auf die unten citierte Literatur und die Zusammenstellung bei ROSCOE-SCHORLEMMER (1).

Technisch wichtig ist vor allen die L e c a n o r s ä u r e oder Diorsellinsäure ($C_{16}H_{14}O_7 + 2H_2O$, bei 100° getrocknet $C_{16}H_{14}O_7 + H_2O$), als das Ausgangsmaterial für die Bereitung des O r s e i l l e - und des L a c k m u s f a r b s t o f f e s. Sie bildet farblose, bei 167° schmelzende Kristalle, die in Wasser unlöslich und in Alkohol leicht löslich sind, und wird durch 5 Kochen mit Wasser in zwei Moleküle Orsellinsäure ($C_6H_2(CH_3)(OH)_2.COOH$) zerlegt. Praktisch verwendet wird hauptsächlich die *Roccella tinctoria* Ach. vom Cap Verd und den Capverdischen Inseln, dann auch *Roccella fuciformis* Ach. und andere Arten. Zur Darstellung des **Orseillefarbstoffes,** dessen Hauptbestandteil das Orcein (s. u.) bildet, überläßt man die zer- 10 kleinerten Flechten der Fäulnis unter Beifügung von Urin, der gegenwärtig meist durch Gaswasser oder daraus bereitete Ammoniaklösung ersetzt wird. Der Vorgang dabei ist in seinem ersten Teil kein rein chemischer, sondern ein Fäulnis-, also ein biologischer Vorgang. Czapek (1) hat den typischen Fäulniserreger als ein dem *Bac. subtilis* ähnliches 15 Stäbchen rein gezüchtet, das sich durch seine große Widerstandsfähigkeit gegen Ammoniak auszeichnet. Der Bazillus erzeugt als Spaltungsprodukt O r c i n, $C_6H_3(CH_3)(OH)_2$ (vgl. o. Orsellinsäure), welches selbst farblos und für die Spaltpilze ein Gift ist. Durch das beigefügte Ammoniak verwandelt sich jedoch das Orcin zunächst in Orcinammoniak, 20 das sich an der Luft nach der Gleichung

$$\underset{\text{Orcin}}{C_7H_8O_2} + NH_3 + 3O = \underset{\text{Orcein}}{C_7H_7NO_3} + 2H_2O$$

zu Orcein umsetzt. Letzterem wird, nebenbei bemerkt, aber auch die Formel $C_{28}H_{24}N_2O_7$ zugeschrieben. Das Orcein hindert die weitere Ent- 25 wicklung der Bakterien nicht. Es ist ein amorphes, braunrotes Pulver, das in Wasser unlöslich ist und von Alkohol mit schön roter Farbe gelöst wird. Orcin bzw. Orsellinsäure ist übrigens auch in vielen anderen Flechtensäuren enthalten, so in der E r y t h r i n s ä u r e ($C_{20}H_{22}O_{10} + H_2O$) aus *Roccella*-Arten, aus *Lecanora tartarea* Ach. u. a., und in der E v e r n - 30 s ä u r e ($C_{17}H_{16}O_7$) aus *Evernia prunastri* L.

Die eben genannte *Lecanora tartarea* liefert, ebenso wie verschiedene andere Arten, so z. B. die genannten Roccellen, *Pertusaria communis* Fr. u. a., den wichtigsten Rohstoff für die Darstellung des **Lackmusfarbstoffes.** Auch hier wird ein Fäulnisvorgang eingeleitet, unter Beigabe von 35 Ammoniaklösung, Alaun, Pottasche und Kalk. Hat die Masse sich intensiv blau gefärbt, so wird sie mit Kreide oder Gips vermischt, zu Kuchen geformt und getrocknet. Der wesentlichste Bestandteil des Lackmus soll eine Substanz des Namens Azolithmin sein, welcher die Formel $C_7H_7NO_4$ zugeschrieben wird. 40

Das P h y s c i o n, insbesondere in der gelben Wandflechte, *Xanthoria parietina* L., enthalten, hat die Zusammensetzung $C_{16}H_{12}O_5$ und ist wahrscheinlich ein Anthracenderivat (Methyldioxyanthrachinon) von der Formel $C_{15}H_7(OH)_2(OCH_3)O_2$. Es bildet mit Alkalien lösliche, mit Calcium und Baryum unlösliche purpurrote Salze. Von den einen wird 45 behauptet, von anderen bestritten, daß es mit der in den Wurzelstöcken des Rhabarber enthaltenen C h r y s o p h a n s ä u r e identisch sei, was aus biologischen Gründen nicht sehr wahrscheinlich ist. Das gleiche gilt wohl auch bezüglich des Vorkommens von E m o d i n in Flechten (s. Bachmann [4]). 50

Die zuerst aus *Evernia vulpina* Ach. dargestellte V u l p i n s ä u r e

($C_{19}H_{14}O_5$) ist der saure Methylester der Pulvinsäure, welcher die Formel

$$\begin{array}{c} \text{COOH}\quad\text{OH} \\ C_6H_5\cdot C=C-C=C\cdot C_6H_5 \\ \text{O}-\!-\!-\text{CO} \end{array}$$

zukommt. Sie bildet schwefelgelbe Kristalle vom Schmelzpunkt 148°, ist in alkoholischer Lösung von sehr bitterem Geschmack und überdies 5 giftig.

Die Usninsäure ($C_{18}H_{16}O_7$), zuerst aus der Bartflechte (*Usnea barbata* L.) gewonnen, kommt in sehr vielen Flechtenarten (bekannt sind fast 60) vor. Nach WIDMANN (1) ist ihre Strukturformel

$$\begin{array}{c} O-CO \\ CH_3\cdot CO\cdot C:C\cdot C:C\cdot CH\cdot C_8H_{11} \\ CO-O\qquad COOH \end{array}$$

Sie tritt in einer Links- und einer Rechtsform, mit $\alpha_D = \pm 49{,}5°$, und 10 als inaktives Gemisch auf; des letzteren Schmelzpunkt liegt bei 191° C, jener der ersteren beiden im reinen Zustande jedoch erst bei 203° C.

Aus der *Cetraria islandica* L. sind die Lichesterinsäure ($C_{18}H_{30}O_5$) und die bitter schmeckende Cetrarsäure ($C_{26}H_{20}O_{12}$) dargestellt worden; beide sind zweiwertig, übrigens in ihrer Konstitution noch unbekannt. 15 Die letztgenannte kommt nur selten als solche, sondern meist mit Fumarsäure verbunden als Fumaryl- oder Protocetrarsäure ($C_{30}H_{22}O_{15}$) vor. Die Lichesterinsäure ist in mehreren (mindestens drei) einfachen Modifikationen und dazu noch als polymere Dilichesterinsäure ($C_{36}H_{60}O_{10}$) bekannt.

20 Die Roccellsäure ($C_{17}H_{32}O_4$) ist eine zweiwertige Fettsäure $C_{15}H_{30}(COOH)_2$ und nach F. SCHWARZ (2) nur ein Bestandteil der Algenzellen, nicht des Flechtenpilzes.

Weitere Literatur als die bisher citierte findet man bei BACHMANN (2, 5, 6), HILGER und BUCHNER (1), KAPPEN (1), KOBERT (2, 3), 25 LILIENTHAL (1), PATERNÓ (1), SALKOWSKI (3), SMITS (1) und insbesondere bei HESSE (1, 2, 3) und ZOPF (5, 9, 11, 12, 13).

§ 71. Gerbstoffe, Harze, ätherische Oele und sonstige Riechstoffe. — Der biologische Arsennachweis.

Die nach ihrer chemischen Natur nur noch wenig bekannten natür- 30 lichen **Gerbstoffe**, teils glycosid-, teils säureartige Verbindungen, spielen im Reiche der Pilze eine recht untergeordnete Rolle. Bisher sind sie in größeren Mengen nur in holzbewohnenden Pilzen nachgewiesen worden und vielleicht nur aus dem Holz in den Pilz übergegangen. NAUMANN (1) hat eine größere Anzahl von Pilzen auf Gerbstoffe unter- 35 sucht und als Höchstgehalt 0,4 Proz., meist aber weit weniger gefunden, jedenfalls weniger als die Nährpflanze enthielt. Wahrscheinlich findet im Pilzkörper ein Verbrauch des Gerbstoffes statt. Es zeigten sich viele Pilze frei von solchem, obwohl sie auf gerbstoffhaltigem Boden

herangewachsen waren. Besondere gerbstoffführende Hyphen besitzt nach KINDERMANN (1) das *Stereum sanguinolentum* FR.; hier färbt sich der Saft mit Eisenchlorid dunkelgrün, während in den von NAUMANN untersuchten Fällen die eisengrünende oder -bläuende Eigenschaft meist schon verloren war. Der Behauptung, daß in Hefen Gerbstoff vor- 5 komme, hat H. WILL (2) eine eingehende kritische Untersuchung an 27 *Saccharomyces*-Arten und einer *Mycoderma*-Art zuteil werden lassen. Danach kommt Gerbstoff in jüngeren Zellen überhaupt nicht vor; in allen Fällen, in welchen mit Eisensalzen oder mit Goldchlorid Gerbstoff-reaktion erhalten wurde, waren es ältere Entwicklungszustände, häufig 10 sogar bereits abgestorbene Zellen. Auch zeigte immer nur eine geringe Anzahl die Erscheinung; nur bei *Saccharomyces Ludwigii* HANSEN waren die gerbstoffführenden Zellen etwas häufiger. Der Gerbstoff entstammte wohl stets dem Hopfen der Bierwürze, in welcher die Züchtung vorgenommen worden war. — Von einem Vorkommen des Gerbstoffes in Bak- 15 terien ist nichts bekannt.

Harze kommen in Pilzen, namentlich in Baumschwämmen, aber auch in erdbewohnenden, nicht selten vor. So fand ZOPF (1) im *Polyporus hispidus* FR. eine Substanz mit den Reaktionen einer Harzsäure, die er als „Pilzgutti" bezeichnet, und welche dem echten Gummigutti 20 sehr ähnelt. Das Gutti ist in Aethyl-, Methylalkohol und Aether löslich, in Benzol und Terpentinöl schwer löslich, noch weniger in Benzin und Schwefelkohlenstoff. Mit Metallen bildet es salzartige Verbindungen, von denen die mit Kalium und Natrium wasserlöslich sind. Beim Schmelzen mit Kali entstehen Fettsäuren und Phloroglucin. 25

Der Lärchenschwamm, *Polyporus officinalis* FR., ist besonders reich an Harzen, die als α-, β-, γ- und δ-Harz unterschieden werden. Das α- oder rote Harz, das SCHMIEDER (1) zufolge 35—40 Proz. der Droge ausmacht, besteht noch aus mindestens zwei verschiedenen Körpern. Das β- oder weiße Harz ist wesentlich Agaricinsäure, $C_{14}H_{27}(OH)(COOH)_2 + H_2O$. 30 Diese kristallisiert aus Alkohol in feinen, büschelförmigen und oft zu Sphärokristallen sich vereinigenden Nadeln, die bei ca. 129° schmelzen. Sie ist im Fruchtkörper zu etwa 16 Proz. enthalten. Man vgl. auch JAHNS (1) und SIEDLER (1). Als Pseudoagaricinsäure bezeichnen ADRIAN und TRILLAT (1) eine Substanz von der Formel $C_{39}H_{60}O_6$, 35 welche nicht Säurecharakter besitzt, bei 258° schmilzt und von Salzsäure und kochender Lauge gelöst wird. Aus dem *Lactarius piperatus* gewannen CHODAT und CHUIT (1) eine harzartige Masse, welche sie Piperon nennen, da sie die Ursache des scharfen Geschmacks zu sein scheint; sie ist stickstoffrei und im Milchsaft im emulgierten Zustande enthalten. 40 Weitere Angaben über Harze in Pilzen findet man bei ZOPF (1, 7, 9 und insbesondere 2, S. 409 u. f.).

Aetherische Oele sind von Pilzen noch wenig bekannt. VAN BAMBEKE (1) fand im *Lentinus cochleatus* PERS. ein nach Anis duftendes Oel. HAENSEL (1) stellte aus dem Steinpilz (*Boletus edulis*) ein in der Menge von nur 45 0,056 Proz. enthaltenes Oel von angenehmem Pilzgeruch dar, welches bei 34° schmilzt. Aus Hefe gewannen HINSBERG und ROOS (1) äußerst geringe Mengen eines ätherischen Oeles, das konzentriert nach Hyazinthen riecht, in Verdünnung aber den eigenartigen Hefengeruch besitzt. Einen Pilz, der Schwefelkohlenstoff aushaucht, entdeckte WENT (1) in 50 dem tropischen *Schizophyllum lobatum* BREF. Die Substanz, welche den starken Geruch des Moschuspilzes (*Fusarium aquaeductuum* v. LAGERH., Konidienform zu *Nectria moschata* GLÜCK) bedingt, ist wie viele andere

vulgaris MIG., *B. typhosus* GAFFKY, *B. coli* (ESCH.) MIG., jene Eigenschaft. Der Probe mittelst *Penicillium brevicaule* wurden auch Antimon, Selen und Tellur unterworfen, ersteres ohne Erfolg; die tellurhaltigen Zuchten gaben einen den Arsengasen täuschend ähnlichen Geruch, die mit Selen versetzten rochen mercaptanartig. Um das *Penicillium brevicaule* für den Fall einer anzustellenden Prüfung auf Arsen stets bereit und vorrätig zu halten, wird Aussaat auf Kartoffelscheiben, welche alljährlich nur einmal erneuert zu werden braucht, empfohlen.

Literatur

zum Kapitel Chemie des Zellinhaltes.

*__Abba,__ F., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 806. *__Abel,__ R., und __Buttenberg,__ P., (1) Z. f. Hyg., 1899, Bd. 32, S. 449. *__Abelous,__ J. E., und __Aloy,__ J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 138, S. 382. *__Abelous,__ J. E., und __Gérard,__ E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 129, S. 56 u. 164. *__Adrian__ und __Trillat,__ (1) Comptes rend. de l'Ac., 1901, Bd. 132, S. 151. *__Albert,__ R., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1900, Bd. 33, S. 3775. *__Albert,__ R., und __Buchner,__ E., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1900, Bd. 33, S. 971. *__Albert,__ R., __Buchner,__ E., und __Rapp,__ R., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1902, Bd. 35, S. 2376. *__Altmann,__ R., (1) Arch. d. Anat. u. Phys., 1889, S. 524. *__Aronson,__ H., (1) Arch. f. Kinderheilkunde, 1901, Bd. 30. *__Arthus,__ M., (1) Centralbl. f. Physiol., 1896, Bd. 10, S. 225. *__Ascoli,__ A., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1899, Bd. 28, S. 426. — (2) Ebenda, 1900, Bd. 31, S. 161. *__Aso,__ K., (1) Bullet. of the College of Agricult. Tokio, 1900, Bd. 4, S. 81. *__Babcock,__ S. M., und __Russel,__ H. L., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 615. — (2) Ebenda, 1900, Bd. 6, S. 17. *__Babcock,__ S. M., __Russel,__ H. L., __Vivian,__ A., und __Baer,__ U. S., (1) 18th Ann. Rep. Wiskonsin Agr. Exp. Stat., 1901, S. 136. *__Babes,__ A., (1) Comptes rend. Soc. Biologique, 1889, H. 25. — (2) Ebenda, 1890, S. 438. *__Bachmann,__ E., (1) Programm d. Gymnas. zu Plauen i. V., Ostern 1886. — (2) Z. f. wiss. Mikroskopie, 1886, Bd. 3, S. 216. — (3) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1886, Bd. 4, S. 68. — (4) Ebenda, 1887, Bd. 5, S. 192. — (5) Flora, 1887, Bd. 70, S. 291. — (6) Jahrb. wiss. Bot., 1890, Bd. 21, S. 1. *__van Bambeke,__ Ch., (1) Bullet. Acad. Roy. de Belgique, Classe des sciences, 1892, sér. III, Bd. 23, S. 472. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 33, S. 227. — (3) Mém. des membres de l'Acad. Roy. de Belg., 1902, Bd. 54. *__Bamberger,__ M., und __Landsiedl,__ A., (1) Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, 1903, Bd. 90, S. 44; Monatsh. f. Chem., 1903, Bd. 24, S. 218. *__Bang,__ J., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1898, Bd. 26, S. 133. *__Banning,__ Fr., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 395. *__Barthelat,__ G. J., (1) Les mucorinées pathogènes etc. Thèse, Paris 1903. *__Bary, A. de,__ (1) Ueb. d. Fruchtentwicklg. d. Ascomyceten, Leipzig 1863. — (2) Bot. Ztg., 1886, Bd. 44, S. 377. *__Bashford,__ A., (1) Journ. of Pathology, 1902. *__Beauverie,__ J., und __Guilliermond,__ A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 275. *__Behrens,__ J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 514. *__Beijerinck,__ M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1889, Bd. 6, S. 44. — (2) Bot. Ztg., 1891, Bd. 49, S. 705; Arch. Néerlandaises, 1891, Bd. 25. — (3) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 521. — (4) Ebenda, 1901, Bd. 7, S. 33. *__Belzung,__ E., (1) Journ. de Botanique, 1892, Bd. 6, S. 456. *__Bendix,__ E., (1) Deutsche med. Wochenschr., 1901, Bd. 27, H. 2. *__Bernard,__ Cl., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1855, Bd. 41, S. 461; 1857, Bd. 44, S. 578. *__Berninzone,__ R., (1) Atti d. Soc. Ligustica di scienze nat. e geogr., 1900, Bd. 40, S. 327. *__Berthelot,__ M., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1860, Bd. 50, S. 980. *__Bertrand,__ G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 120, S. 266. — (2) Ebenda, Bd. 121, S. 166. — (3) Ebenda, 1896, Bd. 122, S. 1215. — (4) Ebenda, 1897, Bd. 124, S. 1132 u. 1355. — (5) Ebenda, 1898, Bd. 126, S. 762. — (6) Ebenda, 1901, Bd. 133, S. 1233. — (7) Ebenda, 1902, Bd. 134, S. 124. *__Bertrand,__ G., und __Mallèvre,__ A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1894, Bd. 119, S. 1012. — (2) Ebenda, 1895, Bd. 120, S. 110. *__Biel,__ W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 137. *__Biffen,__ R. H., (1) Annals of Botany, 1899, Bd. 13, S. 336. — (2) Ebenda, 1901, Bd. 15, S. 119. *__Biginelli,__ P., (1) Atti d. R. Accad. dei Lincei, Rom, 1900, Ser. V., Bd. 9, 2. T., S. 210 u. 242. *__Billings,__ H., (1) Flora, 1900, Bd. 87, S. 288. *__Bischofsberger,__ A., (1) Geburtshilfl.-klinische Untersuchungen über die Haltbarkeit des Mutterkorns, Diss., Bern 1897. *__Böhm,__ R., und __Külz,__ E., (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 1886, Bd. 19, S. 85. *__Boekhout,__ F. W. J., und __Ott de Vries,__ J. J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4,

S. 497. ***Bokorny,** Th., (1) Die Spiritus-Industrie (Wettendorfer), 1900, Bd. 18, S. 9. — (2) Ebenda, S. 33. — (3) Pharmac. Centralhalle, 1900, Bd. 41, S. 737. — (4) Chem.-Ztg., 1901, Bd. 25, S. 502. ***Boland,** G. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1899, Bd. 25, S. 897. ***Bordoni-Uffreduzzi,** G., (1) Giornale d. R. Soc. Ital. d'Igiene, 1894; Hyg. Rundsch., 1894, S. 1. ***Bougault,** J., und **Allard,** G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1902, Bd. 135, S. 796. ***Bourquelot,** Em., (1) Bull. Soc. Mycologique de France, 1890, Bd. 6, S. 132. — (2) Ebenda, 1890, Bd. 6, S. 150 u. 185; 1891, Bd. 7, S. 50, 121 u. 185. — (3) Comptes rend. de l'Ac., 1890, Bd. 111, S. 534. — (4) Ebenda, S. 578. — (5) Bull. Soc. Mycolog., 1891, Bd. 7, S. 208; Journ. de Pharm. et de Chim., 1891, 5. sér., Bd. 24, S. 524. — (6) Comptes rend. de l'Ac., 1893, Bd. 116, S. 1143. — (7) Comptes rend. de la Soc. Biologique, 1893, Bd. 45, S. 804; Comptes rend. de l'Ac., 1893, Bd. 117, S. 383. — (8) Bull. Soc. Mycolog., 1893, Bd. 9, S. 51. — (9) Ebenda, S. 189. — (10) Ebenda, 1894, Bd. 10, S. 49. — (11) Journ. de Pharm. et de Chim., 1895, 6. sér., Bd. 2, S. 385. — (12) Ebenda, 1896, Bd. 4, S. 145. — (13) Ebenda, S. 241; Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 123, S. 260, 315 u. 423. — (14) Bull. Soc. Mycolog., 1897, Bd. 13, S. 65. — (15) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 136, S. 762. ***Bourquelot,** Em.. und **Bertrand,** G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 121, S. 783; Bull. Soc. Mycolog., 1896, Bd. 12, S. 18. — (2) Ebenda, Bd. 12, S. 27. — (3) Journ. de Pharm. et de Chim., 1896, 6. sér., Bd. 3, S. 177. ***Bourquelot,** Em., und **Harlay,** V., (1) Bull. Soc. Mycolog., 1896, Bd. 12, S. 153. ***Bourquelot,** Em., und **Hérissey,** H., (1) Bull. Soc. Mycolog., 1895, Bd. 11, S. 235. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 121, S. 693. — (3) Ebenda, 1898, Bd. 127, S. 666; Journ. de Pharm. et de Chim., 1898, 6. sér., Bd. 8, S. 448. — (4) Comptes rend. de la Soc. Biolog., 1898, Bd. 50. — (5) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 129, S. 228, 391 u. 614. — (6) Ebenda, 1900, Bd. 130, S. 42 u. 340. — (7) Ebenda, 1902, Bd. 135, S. 399. — (8) Ebenda, 1903, Bd. 137, S. 56. — (9) Bull. Soc. Biolog., 1903, Bd. 55, S. 219. ***Bredig,** G., (1) Die anorganischen Fermente, Leipzig 1901; Comptes rend. de l'Ac.. 1901, Bd. 132, S. 490. — (2) Die Elemente der chemischen Kinetik, in Asher-Spiro, Ergebnisse der Physiologie, 1902, Bd. 1, Teil I, S. 134. ***Brieger,** L., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1885, Bd. 9, S. 1. — (2) Ebenda, 1887, Bd. 11, S. 184. ***Brissemoret,** (1) Les Nouv. Remèdes, 1899, Bd. 15, S. 52. ***Brown,** A. J., (1) Proceed. Chemic. Society, 1902, Bd 18, S. 42. ***Brown,** H. T., und **Glendinning,** T. A., (1) Proced. Chemic. Society, 1902, Bd. 18, S. 43. ***Brühl,** J. W., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1895, Bd. 28, S. 2847 u. 2866; ausführlicher in Z. f. physikal. Chem., 1895, Bd. 18, S. 514. ***Buchner,** E., **Buchner,** H., und **Hahn,** M., (1) Die Zymasegärung, München und Berlin 1903. ***Buchner,** E., und **Meisenheimer,** J., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1903, Bd. 36, S. 634. ***Bulloch,** W., und **Hunter,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1900, Bd. 28, S. 865. ***Burian,** R., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1904, Bd. 37, S. 708. ***Cacace,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 30, S. 244. ***Carega,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 34, S. 323. ***Carrière,** (1) Comptes rend. Soc. Biologique, 1901, Bd. 53, S. 320. ***Cathcart,** E., und **Hahn,** M., (1) Arch. f. Hyg., 1902, Bd. 34, S. 295. ***Cathelineau,** H., (1) Ann. Pasteur, 1896, Bd. 10, S. 228. ***Ceni,** C., und **Besta,** C., (1) Centralbl. f. allgem. Pathol. u. patholog. Anatom., 1902, S. 930. ***Chamot,** E. M., und **Thiry,** G., (1) Comptes rend. du Congrès des Soc. Savantes de 1902, Paris 1903. ***Chodat,** R., und **Bach,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1902, Bd. 35, S. 1275. — (2) Ebenda, S. 2466. — (3) Ebenda, S. 3943. — (4) Ebenda, 1903, Bd. 36, S. 600. — (5) Ebenda, S. 606. — (6) Ebenda, S. 1756. — (7) Ebenda, 1904, Bd. 37, S. 36. ***Chodat,** R., und **Chuit,** Ph., (1) Arch. des sciences phys. et natur., 1889, 3. sér., Bd. 21, S. 385. ***Christomanos,** A., (1) Z. f. Hyg., 1901, Bd. 36, S. 258. ***Claessen,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1890, Bd. 7, S. 13. ***Clautriau,** G., (1) Mém. couronn. etc., publ. p. l'Ac. Roy. de Belgique, 1895—96. Bd. 53, S. 1. ***Cohnheim,** O., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1901, Bd. 33, S. 451; 1902, Bd. 35, S. 134. — (2) Chemie der Eiweißkörper, 2. Aufl., Braunschweig 1904. ***Cole,** S. W., (1) Journ. of Physiology, 1903, Bd. 30, S. 281. ***Connstein,** W., **Hoyer,** E., und **Wartenberg,** H., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1902, Bd. 35, S. 3988. ***Cossettini,** G., (1) Bollet. Chim. Farmac., 1901, Bd. 40, S. 75. ***Cramer,** E., (1) Arch. f. Hyg., 1892, Bd. 16, S. 151. — (2) Ebenda, 1894, Bd. 20, S. 197. ***Cremer,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1899, Bd. 32, S. 2062. ***Cremer,** M., (1) Münch. mediz. Wochenschr., 1894, H. 22; Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. zu München, 1894, H. 1. — (2) Z. f. Biologie, 1894, Bd. 31, S. 183. ***Czapek,** Fr., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 49. — (2) Sitzungsber. d. Vereins Lotos, Prag, 1898, H. 7. — (3) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1899, Bd. 17, S. 166. — (4) Ebenda, 1903, Bd. 21, S. 229. ***Dangeard,** P. A., (1) Le Botaniste, 1891, S. 151. — (2) Ebenda, 1894, S. 1. ***Delezenne,** C., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1902, Bd. 135, S. 252. ***Delezenne,** C., und **Mouton,** H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 136, S. 167. — (2) Ebenda, S. 633. ***Denys,** J., und **Brion,** E., (1) La Cellule, 1892, Bd. 8, S. 305. ***Duclaux,** E., (1) Traité de Microbiologie, Bd. 1, Paris 1898; Bd. 2, 1899; Bd. 3, 1900; Bd. 4, 1901.

***Dupetit,** G., (1) Mém. Soc. des scienc. phys. et natur. de Bordeaux, 1887, 3. sér., Bd. 3. ***Dzierzgowski** und **Rekowski,** (1) Arch. des sciences biologiques, 1892, S. 167. ***Effront,** J., (1) Les Enzymes et leurs applications, Paris 1899. ***Emmerling,** O., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1901, Bd. 34, S. 600. — (2) Ebenda, S. 3810. — (3) Ebenda, S. 3811. — (4) Die Enzyme, in Roscoe-Schorlemmer's Handbuch d. Chemie, Bd. 9. ***Engelmann,** Th., (1) Bot. Ztg, 1888, Bd. 46, S. 661. ***Erdmann** und **Winternitz,** (1) Münch. medizin. Wochenschr., 1903, S. 982. ***Eriksson,** J., (1) Z. f. Pflanzenkrankheiten, 1900, S. 15. ***Errera,** L., (1) L'épiplasme des ascomycètes et le glycogène des végétaux. Thèse, Brüssel 1882. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1885, Bd. 101, S. 283. — (3) Bot. Ztg., 1886, Bd. 44, S. 200 u. 316; Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1887, Bd. 5, S. LXXIV; Vortrag auf der Naturforscher-Versammlg., 1887. — (4) Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique, 1893, 3. sér., Bd. 24, H. 3. ***Farkas,** K., (1) Pflügers Archiv, 1903, Bd. 98, S. 547. ***Fermi,** Cl., und **Buscalloni,** L., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 24. ***Fermi,** Cl., und **Pernossi,** L., (1) Z. f. Hyg., 1894, Bd. 18, S. 83. ***Fernbach,** A., (1) Ann. Pasteur, 1889, Bd. 3, S. 473. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1900, Bd. 131, S. 1214. ***Fernbach,** A., und **Hubert,** L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1900, Bd. 130, S. 1783. ***Ferry,** R., (1) Revue Mycologique, 1890, Bd. 12, S. 136. — (2) Ebenda. 1897, Bd. 19, S. 130. ***Ferry,** R., und **Schmidt,** H., (1) Revue Mycologique, 1903, Bd. 25, S. 197. ***Feuilleaubois,** (1) Revue Mycologique, 1894, Bd. 16, S. 97. ***Fischer,** Alfred, (1) Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas, Jena 1899. ***Fischer,** Emil, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1890, Bd. 23, S. 3687. — (2) Ebenda, 1894, Bd. 27, S. 2985 u. 3479; 1895, Bd. 28, S. 1429. — (3) Ebenda, 1895, Bd. 28, S. 1973. — (4) Ebenda, S. 3024. — (5) Z. f. physiolog. Chem., 1898, Bd. 24, S. 60. — (6) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1899, Bd. 32, S. 435. ***Fischer,** E., und **Armstrong,** E. F., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1902, Bd. 35, S. 3144. ***Fischer,** E., und **Lindner,** P., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1895, Bd. 28, S. 3034. ***Fischer,** E., und **Roeder,** G., (1) Sitzungsber. d. Preuß. Akad. d. Wiss. Berlin, 1901, S. 268. ***Fischer,** Hugo, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 353. ***Fränkel,** S., (1) Monatsh. f. Chem., 1903, Bd. 24, S. 229. ***Frémy,** E., (1) Journ. de Pharm. et de Chim., 1859, Bd. 36, S. 5. ***Freudenreich,** E. von, (1) Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1900, Bd. 14, H. 2; Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 332. ***Fritsch,** K., (1) Beiträge z. chem. Kenntnis einiger Basidiomyceten, Diss., Erlangen 1889; Arch. d. Pharmacie, 1889, 3. Reihe, Bd. 27, S. 193. ***Fünfstück,** M., (1) Lichenes, in Engler und Prantl, Die natürl. Pflanzenfamilien, Bd. I, 1.* Abt. — (2) Festschrift für Schwendener, 1899, S. 341. ***Fuld,** E., (1) Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., 1902, Bd. 2, S. 168. ***Galeotti,** G., (1) Il Morgagni, 1898, H. 2. — (2) Z. f. physiolog. Chem., 1898, Bd. 25, S. 48. ***Galli-Valerio,** B., und **Strzygowski,** C., (1) Pharmaceut. Post, 1900, Bd. 33, S. 637. ***Gamaleïa,** N., (1) Arch. de médecine expérim. et d'anatom. patholog., 1892, Bd. 4, H. 2. — (2) Le Bulletin Médic., 1892, S. 188. ***Gautier,** A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 129, S. 701. ***Gérard,** E., (1) Bull. Soc. Mycolog., 1890, Bd. 6, S. 116. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1892, Bd. 114, S. 1544. — (3) Ebenda, 1895, Bd. 121, S. 723. — (4) Ebenda, 1898, Bd. 126, S. 909. — (5) Ebenda, 1897, Bd. 124, S. 370; Journ. de Pharm. et de Chim., 1897, Bd. 6, S. 529; Bull. Soc. Mycolog., 1897, Bd. 13, S. 182. ***Gérard,** E., und **Darexy,** P., (1) Bull. Soc. Mycolog., 1897, Bd. 13, S. 183. ***Gerlach,** M., (1) Zopf's Beitr. z. Phys. u. Morph. nied. Organismen, 1892, H. 2, S. 49. ***Gessard,** C., (1) La Semaine Médic., 1890, S. 67. — (2) Ann. Pasteur, 1890, Bd. 4, S. 88. — (3) Ebenda, 1891, Bd. 5, S. 737. — (4) Ebenda, 1901, Bd. 15, S. 593; Comptes rend. de l'Ac., 1900, Bd. 130, S. 1327. ***Giglioli,** J., (1) Annuar. d. R. Scuola Super. d'Agricolt., Portici, 1880, Bd. 2. ***Gillot,** V., (1) Etude médicale s. l'empoisonnement p. l. champignons. Thèse, Lyon 1900. ***Gillot,** X., (1) Revue Mycolog., 1902, Bd. 24, S. 125. ***Gonnermann,** M., (1) Chem.-Ztg., 1899, Bd. 23, S. 242; Pflügers Archiv, 1900, Bd. 82, S. 289. ***Gosio,** B., (1) Arch. Ital. de Biologie, 1892, Bd. 18, S. 253. — (2) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1897, Bd. 30, S. 1024. — (3) Il Policlinico, 1900, H. 10. ***Gottheil,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 430. ***Goyaud,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1902, Bd. 135, S. 537. ***Gran,** (1) Bergens Museums Aarbog, 1902, H. 2. ***Green,** J. R., (1) Philosophic. Transactions, 1897, Bd. 188, S. 167. — (2) Die Enzyme. deutsch von Windisch, Berlin 1901. ***Griffiths,** A. B., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1892, Bd. 115, S. 321. — (2) Ebenda, 1900, Bd. 130, S. 42. ***Grimbert,** M. L., (1) Ann. Pasteur, 1895, Bd. 9, S. 840. ***Grimm,** M., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 584. ***Gruber,** Th., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 705. ***Grüß,** J., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1894, Bd. 26, S. 379. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1895, Bd. 13, S. 2. — (3) Beitr. z. wiss. Bot., hrsgg. v. Fünfstück, 1895, Bd. 1, S. 295. — (4) Landw. Jahrbücher, 1896, Bd. 25, S. 385. — (5) W. f. Brauerei, 1901, Bd. 18, S. 310. — (6) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1902, Bd. 20, S. 212. — (7) W. f. Brauerei, 1902, Bd. 19, S. 243. ***Guérin,** G., (1) Journ. de Pharm. et de Chim., 1898, 6. sér.,

Bd. 7, S. 323. ***Guérin, M. P.**, (1) Journ. de Bot., 1898, Bd. 12, S. 230. ***Guichard, P.**, (1) Bulletin Soc. chimique, 1894, 3. sér., Bd. 11, S. 230. ***Guignard und Sauvageau**, (1) Comptes rend. Soc. Biolog., 1894, Bd. 46. ***Guilliermond, A.**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 136, S. 253. ***Haensel, H.**, (1) Pharmac. Ztg., 1903, Bd. 48, S. 315. ***Hahn, M.**, (1) Z. f. Biologie, 1900, Bd. 40, S. 172. — (2) Hahn in Buchner, Zymasegärung, S. 341. ***Hahn, M.**, und **Geret, L.**, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1901, Bd. 33, S. 385. ***Hammarsten, O.**, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1893, Bd. 19, S. 19. ***Hammerschlag**, (1) Correspondenzbl. f. Schweizer Aerzte, 1888, H. 19. — (2) Centralbl. f. klin. Medizin, 1891, H. 1. ***Hanausek, T. F.**, (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1898, Bd. 16, S. 203. ***Hanriot, A**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1901, Bd. 132, S. 146, 212 u. 842. ***Hansen, A.**, (1) Flora, 1889, Bd. 72, S. 88. ***Harden, A.**, und **Young, W. J.**, (1) Journ. Chem. Society, 1902, Bd. 81, S. 1224. ***Harmsen, E.**, (1) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., 1903, Bd. 50, S. 361. ***Hartwich, C.**, (1) Schweizer Wochenschr. f. Chem. u. Pharmacie, 1893, H. 39. — (2) Bull. Soc. Mycolog., 1895, Bd. 12, S. 138. ***Hellmich**, (1) Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmakol., 1889, Bd. 26, S. 328. ***Henneberg** und **Wilke**, (1) D. deutsche Essigindustrie, 1902, Bd. 6, H. 26. ***Hennings, P.**, (1) in Engler u. Prantl, Die natürl. Pflanzenfamilien, Bd. I, 1.** Abt., 1900. ***Henri, V.**, (1) Lois générales des diastases, Paris 1903. ***Henri, V.**, und **Lalou, S.**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 136, S. 1693. ***Henri, V.**, und **Languier des Bancels**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 136, S. 1088. ***Hérissey, H.**, (1) Journ. de Pharm. et de Chim., 1898, 6. sér., Bd. 7, S. 577. — (2) Bull. Soc. Mycolog., 1899, Bd. 15, S. 44. ***Herlant, L.**, (1) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., 1900, Bd. 44, S. 148. ***Herzog, R. O.**, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1902, Bd. 37, S. 149. — (2) Ebenda, 1903, Bd. 37, S. 381. — (3) Ebenda, S. 383. — (4) Ebenda, 1903, Bd. 39, S. 305. ***Hesse, O.**, (1) Liebigs Ann., 1895, Bd. 284, S. 157. — (2) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1897, Bd. 30, S. 357 u. 1983. — (3) J. f. prakt. Chem., 1898, 2. Reihe, Bd. 57, S. 232 u. 409; Bd. 58, S. 465; 1900, Bd. 62, S. 321, 430 u. 459; 1901, Bd. 63, S. 522, Bd. 64, S. 110; 1902, Bd. 65, S. 537; 1903, Bd. 68, S. 1. ***Heut, G.**, (1) Arch. d. Pharmac., 1901, Bd. 239, S. 581. ***Hilger, A.**, und **Buchner, O.**, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1890, Bd. 23, S. 461. ***Hill, A. C.**, (1) Journ. Chem. Society, 1898, Bd. 73, S. 634. — (2) Proceed. Chem. Society, 1901, Bd. 17, S. 184. — (3) Ebenda, 1903, Bd. 19, S. 99. ***Hinsberg, O.**, und **Roos, E.**, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 38, S. 1. ***Hjort, J.**, (1) Centralbl. f. Physiol., 1896, Bd. 10, S. 192. ***Hoffa, W.**, (1) Münch. medizin. Wochenschr., 1891. ***Hofmann, J.**, (1) Ueb. die chem. Bestandteile einiger Pilze, Diss., Zürich 1901. ***Hofmeister, F.**, (1) Arch. f. exper. Pathol. und Pharmakol., 1892, Bd. 36, S. 262. — (2) Ueb. Bau u. Gruppierung der Eiweißkörper, in Asher-Spiro, Ergebnisse der Physiologie, 1902, Bd. 1, Teil I, S. 759. ***Hoppe-Seyler, F.**, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1879, Bd. 2, S. 427; 1880, Bd. 3, S. 374. ***Hugounenq** und **Eraud**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 113, S. 145. ***Husemann, A.**, **Hilger, A.**, und **Husemann, Th.**, (1) Die Pflanzenstoffe, 2 Bde., 2. Aufl., Berlin 1881. ***Inoko, Y.**, (1) Mitteilgn. d. Mediz. Fakult. d. Univers. Tokio, 1890, Bd. 1, S. 313. ***Issaew, W.**, (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1900, Bd. 23, S. 796. ***Iwanoff, K. S.**, (1) Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., 1902, Bd. 1, S. 524. ***Jacoby, C.**, (1) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., 1897, Bd. 39, S. 85. ***Jahns, E.**, (1) Arch. d. Pharmacie, 1883, 3. Reihe, Bd. 21, S. 260. ***Janssens, Fr. A.**, und **Leblanc, A.**, (1) La Cellule, 1898, Bd. 14, S. 203; Ann. de microgr., 1890, Bd. 10, S. 113. ***Jordan, E. O.**, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 33, Ref., S. 274. ***Kaiser, A.**, (1) Chem. Untersuchg. d. Agaricus muscarius L., Diss., Göttingen 1862. ***Kappen, H.**, (1) Z. f. Krystallographie, 1903, Bd. 37, S. 151. ***Kastle, J. H.**, und **Loevenhart, A. S.**, (1) Americ. Chem. Journ., 1900, Bd. 24, S. 491. ***Kindermann, V.**, (1) Oesterr. Bot. Ztschr., 1901, Bd. 51, S. 32. ***Kitajima, T.**, (1) Mitteilgn. d. Mediz. Ges. Tokio, 1902, Bd. 16, S. 17. ***Klebs, E.**, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 20, S. 488. ***Klimoff**, (1) Z. f. Hyg., 1901, Bd. 37, S. 115. ***Klinkenberg, W.**, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1882, Bd. 6, S. 155 u. 566. ***Kobert, R.**, (1) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., 1885, Bd. 18, S. 316. — (2) Sitzungsber. d. Dorpater Naturforsch. Ges., 1892, S. 157. — (3) Ztschr. d. allgem. österr. Apothek.-Vereins, 1894, H. 2. — (4) Arbeiten d. Pharmakol. Instit. Dorpat, 1895, Bd. 12, S. 295. — (5) Sitzungsber. d. Naturforsch.-Ges. Rostock, 1899, H. 5. — (6) Aerztl. Sachverständigen-Ztg., 1903, H. 18. ***Koch, A.**, und **Hosaeus, H.**, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1894, Bd. 16, S. 145. ***Kohl, F. G.**, (1) Untersuchgn. üb. d. Carotin, Leipzig 1902. ***Kohnstamm, Ph.**, (1) Beihefte z. Bot. Centralbl., 1901, Bd. 10, S. 90. ***Kolle, W.**, und **Wassermann, A.**, (1) Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen, Bd. 1, Jena 1903. ***Kossel, A.**, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1879, Bd. 3, S. 284; 1880, Bd. 4, S. 290. — (2) Ebenda, 1881, Bd. 5, S. 152. — (3) Ebenda, S. 267. — (4) Ebenda, 1882, Bd. 6, S. 422. — (5) Ebenda, 1883, Bd. 7, S. 7. — (6) Ebenda, 1886, Bd. 10, S. 248; Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1885, Bd. 18, S. 79 u. 1928. — (7) Arch. d. Anat. u. Phys., 1891, S. 181. — (8) Ebenda, 1893, S. 869. ***Kossel, A.**, und **Neumann, A.**, (1) Ber. d. Deutsch.

Chem. Ges., 1893, Bd. 26, S. 2753. — (2) Ebenda, 1894, Bd. 27, S. 2215; Arch. d. Anat. u. Phys., 1894, S. 194. — (3) Z. f. physiolog. Chem., 1896, Bd. 22, S. 74. *Kostytschew, S., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1904, Bd. 22, S. 207. *Krafkoff, (1) Scripta botan. horti Petropolitani, Ser. III, Bd. 1, S. 17. *Kraft, E., (1) Beitr. z. Biolog. d. Bacter. prodigiosum u. z. chem. Verhalt. s. Pigmentes, Diss. Würzburg, 1902. *Kresling, K., (1) Arch. des scienc. biolog., 1893, Bd. 1, S. 711. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 30, S. 897. *Kurajeff, D., (1) Centralbl. f. d. mediz. Wiss., 1901, Bd. 39, S. 145. *Kutscher, F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1901, Bd. 32, S. 59. *Laer, H. van, (1) cit. nach Kochs Jahresb., Bd. 7, S. 98. *Landsteiner, K., und Jagić, N., (1) Münch. medizin. Wochenschr., 1903, S. 754. *Lannoy, L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1902, Bd. 135, S. 401. *Laurent, E., (1) Ann. Soc. Belge de Microscopie, 1890, Bd. 14, S. 29. *Lasché, A., (1) Brewer and Malster, 1894. *Legrain, (1) Ann. Pasteur, 1891, Bd. 5, S. 707. *Levene, P. A., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 37, S. 402. — (2) Ebenda, Bd. 39, S. 4. *Lewandowsky, (1) Deutsche medizin. Wochenschr., 1890, H. 51. *Liebermann, L., (1) Pflügers Archiv, 1890, Bd. 47, S. 155. *Liebig, J., und Wöhler, F., (1) Liebigs Ann., 1837, Bd. 22, S. 1. *Lilienfeld, L., (1) Arch. d. Anat. u. Phys., 1893, S. 391. *Lilienfeld, L., und Monti, A., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1893, Bd. 17, S. 410. *Lilienthal, R., (1) Ein Beitr. z. Chem. d. Farbstoffes d. gemein. Wandflechte, Diss., Dorpat 1894. *Lindet, L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 138, S. 508. *Lindner, P., (1) W. f. Brauerei, 1888, Bd. 5, S. 290. — (2) Ebenda, 1896, Bd. 13, S. 552. — (3) Ebenda, 1900, Bd. 17, S. 173. — (4) Ebenda, S. 733. *Linossier, G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 112, S. 80. *Lintner, C. J., (1) Pflügers Archiv, 1881, Bd. 40, S. 205. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 793. *Lippmann, O. von, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1903, Bd. 36, S. 331. — (2) Die Chemie d. Zuckerarten, 2. Aufl., Braunschweig 1895, 3. Aufl. 1904. *Loew, O., (1) United States Depart. of Agricult. Washington, 1901, S. 1. *Ludwig, F., (1) Verhandlgn. d. Bot. Ver. d. Prov. Brandenburg, 1889, Bd. 31, S. VII. *Ludwig, H., (1) Arch. d. Pharmacie, 1869, Bd. 189, (2. Ser., Bd. 139), S. 24. *Lustig, A., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1890, Bd. 8, S. 33. *Lyons, R., (1) Arch. f. Hyg., 1896, Bd. 28, S. 30. *Maaßen, A., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1899. Bd. 15, S. 500. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 18, S. 475. *Macchiati, L., (1) Boll. Soc. Bot. Ital., Florenz, 1899, S. 48. *Madsen, Th., (1) Z. f. Hyg., 1899, Bd. 32, S. 239. *Malfatti, H., (1) Ber. d. Naturwiss.-Medizin. Vereins Innsbruck, 1891/92, Bd. 20, S. 9. *Marmé, W., (1) Liebigs Ann., 1864, Bd. 129, S. 222. *Marpmann, G., (1) Z. f. angewandte Mikroskopie, 1897, Bd. 2, S. 9. — (2) Pharmac. Centralhalle, 1900, Bd. 41, S. 666. *Marschall, (1) Arch. f. Hyg., 1897, Bd. 28, S. 16. *Maszewski, T., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1900, Bd. 31, S. 58. *Matruchot, L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1898, Bd. 127, S. 830 u. 881. — (2) Rev. génér. de Bot., 1899, Bd. 12, S. 33. *Maximow, N. A., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1904, Bd. 22, S. 225. *Meulenhoff, J. S., (1) Nederland. Tijdskr. Pharm., 1900, Bd. 12, S. 225. *Meyer, Arthur, (1) Flora, 1899, Bd. 86, S. 428. — (2) Praktikum d. botan. Bakterienkunde, Jena 1903. — (3) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 34, Orig., S. 578. — (4) Bot. Ztg., 1904, Bd. 62, S. 113. *Miescher, F., (1) Hoppe-Seylers medizin.-chem. Untersuchgn., 1871, S. 441. *Miescher, F., und Schmiedeberg, O., (1) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., 1896, Bd. 37, S. 100. *Migula, W., (1) System d. Bakterien, Bd. 2, Jena 1900. — (2) Kompendium d. bakteriol. Wasseruntersuchg., Wiesbaden 1901. *Miquel, P., (1) cit. n. Kochs Jahresb., Bd. 1, S. 176. *Mitscherlich, E., (1) Journ. Pharm. Chim., 1857, sér. I, Bd. 73, S. 168. *Miyoshi, M., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. 28, S. 269. *Mjoen, J. A., (1) Arch. d. Pharmacie, 1896, Bd. 234, S. 278. *Mörner, C. Th., Botan. Sekt. af Naturwetensk. Studentsällskapet Upsala, 1886. *Moll, L., (1) Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., 1902, Bd. 2, S. 344. *Morgenroth, J., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1899, Bd. 26, S. 349; 1900, Bd. 27, S. 721. *Morin, Ch., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1888, Bd. 106, S. 360. *Morpurgo, G., und Brunner, A., (1) Oesterr. Chem.-Ztg., 1898, Bd. 1, S. 167. *Müller, P. Th., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 34, Orig., S. 567. *Nägeli, C. von, (1) Die niederen Pilze, München 1877. *Nägeli, C. von, und Loew, O., (1) Sitzungsber. d. K. Bayer. Akad. d. Wiss., Math.-Phys. Klasse, Mai 1878; J. f. prakt. Chem., 1878, Bd. 17, S. 403; Liebigs Ann., Bd. 193, S. 322. — (2) Sitzungsber. d. K. Bayer. Akad., 1880, Bd. 13, S. 63. *Naumann, O., (1) Ueb. d. Gerbstoffgehalt der Pilze, Diss., Erlangen 1895. *Neelsen, Fr., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1885, Bd. 3, S. 187. *Nencki, M., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1884, Bd. 17, S. 2605. *Nencki, M., und Sieber, N., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1901, Bd. 32, S. 291. *Nestler, A., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1898, Bd. 16, S. 207. *Neubauer, H., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 653. *Neumann, A., (1) Arch. d. Anat. u. Phys., 1898, S. 374. — (2) Ebenda, 1899, S. 552. *Newcombe, F. C., (1) Ann. of Botany, 1899, Bd. 13, S. 49; Bot. Centralbl., 1898, Bd. 73, S. 105. *Nishimura, T., (1) Arch. f. Hyg., 1893, Bd. 18, S. 318. *Nordhausen, M., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 32, S. 1. *Ome-

lianski, W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 193. ***Oppenheimer,** C., (1) Biolog. Centralbl., 1900, Bd. 20, S. 198. — (2) Die Fermente und ihre Wirkungen, 2. Aufl., Leipzig 1903. ***Osborne,** Th. B., und **Campbell,** G. F., (1) Journ. Americ. Chem. Soc., 1900, Bd. 22, S. 379. ***Osborne,** Th. B., und **Harris,** J. F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1902, Bd. 36, S. 85. ***Osborne,** W. A., (1) Journ. Americ. Chem. Soc., 1900, Bd. 22, S. 399; Chemic. News, 1899, Bd. 79, S. 277. ***Oser,** J., (1) Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss., Wien, 1869, Bd. 56, S. 489. ***Ostermann,** (1) Berlin. Tierärztl. Wochenschr., 1895. ***Ostwald,** W., (1) J. f. prakt. Chem., 1884, Bd. 29, S. 385. — (2) Lehrbuch d. allgem. Chemie, Bd. 2, Teil II, Leipzig 1897. ***O'Sullivan,** J., (1) J. federated Inst. Brewing, 1899, Bd. 5, S. 161. ***O'Sullivan,** J., und **Thompson,** F. W., (1) Chemic. News, 1890, Bd. 62, S. 95; Journ. Chem. Society, 1890, Bd. 57, S. 834. ***Overbeck,** A., (1) Nova Acta Leopoldina, Halle 1891, Bd. 55, S. 399. ***Paladino-Blandini,** A., (1) Riforma medica, 1901, Bd. 17, S. 90; 1902, Bd. 18, S. 63; ref. Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1902, Bd. 31, Ref., S. 561. ***Palladino,** P., (1) Atti d. Soc. Ligustica di science natur. Genua, 1896, Bd. 7, S. 233. ***Paternó,** E., (1) Atti d. R. Accad. dei Lincei, Rom 1900, 5. sér., Bd. 9, Teil II, S. 119. ***Patouillard,** N., (1) Revue Mycolog., 1882, Bd. 4, S. 213. ***Payen,** A., und **Persoz,** (1) Ann. de chim. et de phys., 1833, 2. sér., Bd. 53, S. 73. ***Petit,** P., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1893, Bd. 116, S. 995. ***Petrow,** N., (1) Arb. a. d. Bakteriol. Instit. Karlsruhe, 1902, Bd. 2, S. 273. ***Pfaundler,** M., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1902, Bd. 31, Orig., S. 113. ***Pfeffer,** W., (1) Ber. Math.-Phys. Klasse d. K. Sächs. Ges. d. Wiss., Leipzig, 1896. (2) Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Bd. 1, Leipzig 1897. ***Pfeiffer,** R., (1) Z. f. Hyg., 1892, Bd. 11, S. 393. ***Pflüger,** E., (1) Pflügers Archiv, 1903, Bd. 96, S. 1. ***Pizzi,** A., (1) Staz. Speriment. Agrar. Ital., 1889, Bd. 17, S. 167 u. 737. ***Porodko,** T., (1) Beihefte z. Bot. Centralbl., 1904, Bd. 16, S. 1. ***Pottevin,** H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1900, Bd. 131, S. 1215. — (2) Ebenda, 1903, Bd. 136, S. 1152. ***Pozzi-Escot,** M. E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1902, Bd. 134, S. 479. — (2) Bull. Soc. Chimique, Paris, 1902, 3. sér., Bd. 27, S. 280. — (3) Ebenda, S. 346. — (4) Ebenda, S. 557. ***Prillieux,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 112, S. 894. ***Prillieux** und **Delacroix,** (1) Bull. Soc. Mycolog., 1891, Bd. 7, S. 116. — (2) Ebenda, 1892, Bd. 8, S. 22. ***Raciborski,** M., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1898, Bd. 16, S. 52. — (2) Ebenda, S. 119. ***Rademaker** und **Fischer,** (1) Ztschr. d. österr. Apotheker-Vereins, 1887, Bd. 41, S. 419. ***Ransom,** F., (1) Deutsche Mediz. Wochenschr., 1901, Bd. 27, S. 194. ***Rapp,** R., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 625. ***Ráthay,** E., und **Haas,** B., (1) Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, 1883, Bd. 70, S. 1. ***Raudnitz,** R. W., (1) Centralbl. f. Physiologie, 1899, Bd. 12, S. 790. ***Reinke,** J., (1) Untersuchgn. a. d. Bot. Instit. Göttingen, 1881, H. 2; vorl. Mitt. in Bot. Ztg., 1880, Bd. 38, S. 815. ***Rey-Pailhade,** J. de, (1) Bull. Soc. Chimique, Paris, 1890, 3. sér., Bd. 3, S. 171. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1894, Bd. 118, S. 201. ***Roscoe-Schorlemmer,** (1) Ausführl. Lehrbuch d. Chemie, v. J. W. Brühl, Bd. 8 (d. Organ. Chem. Bd. 6), Braunschweig 1901, S. 914. ***Rosenberg,** O., (1) Z. f. wiss. Mikroskopie, 1898, Bd. 15, S. 56. ***Rosetti,** E. G., (1) L'Orosi, 1898, Bd. 21, S. 289. ***Rothenbach,** (1) Z. f. Spiritusindustrie, 1895, Ergänzungsheft S. 26. ***Roux** und **Yersin,** (1) Ann. Pasteur, 1888, Bd. 2, S. 629; 1889, Bd. 3, S. 273; 1890, Bd. 4, S. 385. ***Ruppel,** G., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1898, Bd. 26, S. 218. — (2) Die Proteine; Beitr. z. experim. Therapie, v. E. Behring, 1900, H. 4. ***Sacharoff,** N., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 24, S. 661. ***Sachs,** H., (1) Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., 1902, Bd. 2, S. 125. ***Salkowski,** E., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1889, Bd. 13, S. 506. — (2) Ebenda, 1900, Bd. 31, S. 304. — (3) Liebigs Ann., 1901, Bd. 314, S. 97. ***Samkow,** S., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 11, S. 305. ***Sata,** A., (1) Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat., 1900, S. 97. ***Schaffer,** F., (1) Sitzber. Naturforsch. Ges. Bern, 1879, S. 25. ***Schindler,** S., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1889, Bd. 13, S. 432. ***Schittenhelm,** A., und **Schröter,** F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 39, S. 203. ***Schmiedeberg,** O., und **Harnack,** E., (1) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol., 1896, Bd. 5, S. 101. ***Schmiedeberg,** O., und **Koppe,** (1) Das Muscarin d. gift. Alkaloid d. Fliegenpilzes, Leipzig 1869. ***Schmieder,** J., (1) Ueber Bestandteile des Polyporus off. Fr., Diss., Erlangen 1886; Arch. d. Pharmacie, 1886, Bd. 224, S. 641. ***Schneider,** P., (1) Die Bedeutg. d. Bakterienfarbstoffe f. d. Unterscheidg. d. Arten, Diss., Basel 1894. ***Schönbein,** C. F., (1) Abhandlgn. d. K. Bayer. Akad. d. Wiss., 1855, Bd. 7; Verhandlgn. d. Naturforsch. Ges. Basel, 1856, H. 3, S. 399; Bot. Ztg., 1856, Bd. 14, S. 819. ***Scholtz,** W., (1) Berlin. klin. Wochenschr., 1899, Bd. 36, S. 913. ***Schroeder,** R., (1) Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., 1902, Bd. 2, S. 389. ***Schroeter,** J., (1) Beitr. z. Biolog. d. Pflanz., 1875, Bd. 1, S. 109. ***Schroetter,** H. **von,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1895, Bd. 18, S. 781. ***Schütz,** E., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1887, Bd. 9, S. 577. ***Schukow,** J., (1) Z. d. Vereins f. Rübenzucker-Industrie, 1900, Bd. 50, S. 818. ***Schulze,** E., und **Winterstein,** E., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1899, Bd. 32, S. 3191. ***Schulze,** E.,

und **Boßhard,** E., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1886, Bd. 10, S. 80. ***Schwann,** Th., (1) Müllers Archiv, 1836, S. 90. ***Schwarz,** F., (1) Die morphol. u. chem. Zusammensetzg. d. Protoplasma, Breslau 1887; Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1887, Bd. 5. — (2) Ebenda, 1880, Bd. 3, S. 249. ***Schweinitz,** E. **de,** und **Dorset,** M., (1) Journ. Americ. Chem. Soc., 1895, Bd. 17, S. 605. — (2) Ebenda, 1897, Bd. 19, S. 782. — (3) Ebenda, 1903, Bd. 25, S. 354. ***Sclavo** und **Gosio,** (1) Staz. Speriment. Agrar. Ital., 1890, Bd. 19, S. 540. ***Sedlmayr,** Th., (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1903, Bd. 26, S. 381. ***Sieber,** N., (1) J. f. prakt. Chem., 1881, Bd. 23, S. 412. ***Siedler,** P., (1) Ber. d. Deutsch. Pharmac. Ges., 1902, Bd. 12, S. 64. ***Sigwart,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 30, S. 573. ***Šimáček,** E., (1) Centralbl. f. Physiol., 1903, Bd. 17, S. 209. ***Smith,** A. J., (1) Medical News, 1887, Bd. 2, S. 758; Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 3, S. 401. ***Smits,** A., (1) Liebigs Ann., 1902, Bd. 325, S. 339. ***Sommaruga,** (1) Z. f. Hyg., 1894, Bd. 18, S. 441. ***Steudel,** H., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1900, Bd. 30, S. 539; Sitzungsber. d. Gesellsch. z. Befördrg. d. ges. Naturwiss. Marburg, 1901. ***Strasburger,** E., (1) Das botan. Praktikum, 4. Aufl., Jena 1902. ***Strohmer,** F., (1) Z. f. Nahrungsmittel-Unters. etc., 1887, S. 4. ***Stutzer,** A., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1882, Bd. 6, S. 572. ***Symmers,** W. St. Clair, (1) Brit. Medic. Journ., 1891, S. 1252. ***Tammann,** G., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1893, Bd. 16, S. 271. ***Tanret,** C., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1875, Bd. 81, S. 896. — (2) Ebenda, 1878, Bd. 86, S. 888. — (3) Ebenda, 1889, Bd. 108, S. 98. ***Tereg,** J., und **Arnold,** C., (1) Tierärztl. Arzneibuch, 2. Tl., Toxikologie, Berlin 1892. ***Thörner,** W., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1878, Bd. 11, S. 533; 1879, Bd. 12, S. 1630. — (2) Ebenda, 1879, Bd. 12, S. 1635. ***Thorpe,** (1) Chemic. News, 1895, Bd. 72, S. 82. ***Thumm,** K., (1) Arb. a. d. Bakteriol. Instit. Karlsruhe, 1895, Bd. 1, S. 291. ***van Tieghem,** Ph., (1) Bull. Soc. Bot. de France, 1880, Bd. 27, S. 174. ***Tollens,** B., (1) Kurzes Handbuch d. Kohlenhydrate, Breslau 1895 u. 1898. ***Traube,** M., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1893, Bd. 26, S. 1471 u. 1476. ***Trommsdorf,** R., Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902. Bd. 8, S. 82. ***Tubeuf,** C. **von,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 127. ***Tulasne,** L. R. und Ch., (1) Fungi hypogaei, Paris 1851. — (2) Selecta fungorum carpologia, Paris 1861. ***Vandevelde,** G., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1884, Bd. 8, S. 367. ***Verworn,** M., (1) Die Biogenhypothese, Jena 1903. ***Viron,** L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1892, Bd. 114, S. 179. ***Vogl,** A. E., (1) D. wichtigst. vegetabil. Nahrungs- u. Genußmittel, Wien 1899. ***Volk,** R., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 34, Orig., S. 843. ***Ward,** Marshall H., (1) Ann. of Botany, 1898, S. 59. — (2) Philosophic. Transact. Roy. Soc. London, 1899, Ser. B, Bd. 191, S. 269. ***Weigert,** F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 39, S. 213. ***Weil,** R., (1) Arch. f. Hyg., 1901, Bd. 38, S. 330. ***Weingeroff,** L., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 29, S. 779. ***Weinland,** C., (1) Z. f. Biologie, 1901, Bd. 42, S. 55; 1902, Bd. 43, S. 86; 1903, Bd. 45, S. 113. — (2) Ebenda 1902, Bd. 44, S. 45. ***Weis,** F., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1900, Bd. 31, S. 78. ***Weiß,** R., (1) Arb. a. d. Bakteriol. Instit. Karlsruhe, 1902, Bd. 2, S. 165. ***Went,** F. A., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1896, Bd. 14, S. 158. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1901, Bd. 36, S. 61. ***Weyl,** (1) Deutsche Medizin. Wochenschr., 1891, Bd. 17, S. 256. ***Widmann,** O., (1) Liebigs Ann., 1899, Bd. 310, S. 230 u. 265; 1902, Bd. 324, S. 139. ***Wiggers,** (1) Liebigs Ann., 1832, Bd. 1, S. 129. ***Wijsmann,** (1) W. f. Brauerei, 1891, Bd. 8, S. 1087. ***Wilhelmy,** L., (1) Poggendorffs Ann., 1850, Bd. 81, S. 413. ***Will,** H., (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1898, Bd. 21, S. 127. — (2) Ebenda, 1900, Bd. 23, S. 325. ***Windisch,** W., und **Schellhorn,** B., (1) W. f. Brauerei, 1900, Bd. 17, S. 334. ***Winterstein,** E., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1898, Bd. 26, S. 438. ***Winterstein,** E., und **Hoffmann,** J., (1) Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., 1902, Bd. 2, S. 404. ***Wohl,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1890, Bd. 23, S. 2084. ***Wolff,** J., und **Fernbach,** W., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 137, S. 718. ***Woronin,** W., (1) Bot. Ztg., 1891, Bd. 49, S. 84. ***Wortmann,** J., (1) Weinbau u. Weinhandel, 1902. ***Wróblewski,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1898, Bd. 31, S. 3218; Centralbl. f. Physiol., 1898, Bd. 12, S. 697. — (2) Centralbl. f. Physiol., 1899, Bd. 13, S. 284. — (3) J. f. prakt. Chem., 1901, Bd. 64, S. 1. ***Wróblewski,** A., **Bednarski,** B., und **Wojczyński,** M., (1) Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., 1901, Bd. 1, S. 289. ***Wulff,** C., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1893, Bd. 17, S. 468. — ***Wurtz,** R., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1888, Bd. 106, S. 363. ***Yoshida,** (1) Journ. Chem. Society, 1883, Bd. 43, S. 472. ***Zacharias,** E., (1) Bot. Ztg., 1887, Bd. 45, S. 281. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1893, Bd. 11, S. 188. ***Zech,** H., (1) Weitere Beitr. z. chem. Kenntn. einiger Bestandteile a. Secale cornutum, Diss., Erlangen 1894. ***Zimmermann,** Alb., (1) Die botan. Mikrotechnik, Tübingen 1892. — (2) D. Morphol. u. Physiol. d. pflanzl. Zellkerns, Jena 1896. ***Zinno,** A., (1) Riforma Medica, 1893, S. 218. ***Zippel,** Z. f. Veterinärkunde, 1894, Bd. 6, S. 57. ***Zopf,** W., (1) Bot. Ztg., 1889, Bd. 47, S. 53. — (2) Die Pilze, Breslau 1890, Schenks Handbuch d. Bot., Bd. 4. — (3) Z. f. wiss. Mikroskopie,

1889 Bd. 4 s. 272. — 4 Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1891 Bd. 9 s. 22. — 5 Zapiski [illegible] z Pisz i Maryn und Organismen. 1892 [illegible] — 6 Tamże. [illegible] — 7 Tamże 1893 [illegible] s. 28. — 8 Tamże s. 40. — 9 Tamże. 1895 [illegible] s. 62. — 10 Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1901 Bd. 19 s. 12. — 11 [illegible] 1894 Bd. 294 s. [illegible] 1895 Bd. 299 s. 39. 1896 Bd. 295 s. 222. 1897 Bd. 297 s. [illegible] 1898 Bd. 301 s. 122. 1899 Bd. 318 s. 282. 1901 Bd. [illegible] s. [illegible] 1902 Bd. [illegible] s. [illegible] 1902 Bd. [illegible] s. [illegible] i Bd. 324 s. 39. 1903 Bd. [illegible] s. [illegible] — 12 Z [illegible] wiss. [illegible] 1895 Bd. [illegible] s. 105. — 13 [illegible] z Bot. [illegible] 1903 Bd. 14 s. 16. Zakład, [illegible] Bot. Ztg. 1898 Bd. 66 s. 241.

Vierter Abschnitt.

Allgemeine Physiologie der Ernährung der Schizomyceten und der Eumyceten (Stoffwechsel).

(*Manuskript-Einlauf: 4. August 1904.*)

13. Kapitel.

Allgemeine Ernährungsphysiologie. 5

Von Dr. W. BENECKE,
Professor an der Universität zu Kiel.

§ 72. Wesen des Stoffwechsels. Allgemeines über Assimilation.

Es ist die Aufgabe der Physiologie des Stoffwechsels, die in den lebenden Körper ein- und aus ihm austretenden chemischen Elemente und Verbindungen zu untersuchen, alle durch die Lebenstätigkeit inner- 10 und außerhalb der Zellen bewirkten Umsetzungen in materieller und energetischer Hinsicht tunlichst genau zu beschreiben und auf Grund experimenteller Untersuchungen die Frage zu beantworten, welche der dabei angetroffenen Stoff- und Energiearten unerläßlich und welche überflüssig sind, welche anregend oder hemmend auf die Lebenstätigkeit 15 in deren Gesamtheit oder auf deren einzelne Seiten wirken. Selbstverständlich kann an dieser Stelle bloß das Wichtigste an Erfahrungstatsachen aus der Physiologie des Stoffwechsels der Pilze und nicht der gesamte Stoffwechsel behandelt werden. Denn **Stoffwechsel** in der eben gegebenen allgemeinsten Fassung hat Beziehungen zu allen 20 Fragen der Gesamtbiologie, deckt sich mit **Energiewechsel,** da chemische Umsetzungen mit solchem verknüpft sind, und der Stoffwechsel häufig auf letztere abzielt. Er hat auch stete Berührung mit Formwechsel (s. JOST [1]) und Ortswechsel, da die chemische Qualität des Inhaltes wie der Umgebung der Zellen auf Gestaltung und Bewegung des Orga- 25 nismus regulierend wirkt und ihrerseits durch diese reguliert wird. — Wie üblich, teilen wir den Stoffwechsel ein in Assimilation und Dissimilation, oder, was ziemlich gleichbedeutend ist, in Bau- und Betriebsstoffwechsel (PFEFFER [4]).

Assimilation ist die Umwandlung der dargebotenen Nahrungsstoffe in Leibessubstanz. Da der Stand der Kenntnisse verbietet, den vielverschlungenen Pfaden dieser Umwandlung im einzelnen zu folgen, beschränken sich die zunächst folgenden Ausführungen, welche die Assimi-
5 lation im allgemeinen behandeln, darauf, die Ausgangsprodukte dieser aufbauenden Tätigkeit, die Nährstoffe, zu kennzeichnen, und die verschiedenen Pilze nach ihrem verschiedenen Bedürfnis in dieser Richtung zu klassifizieren. Einzelheiten über die zur Ernährung nötigen Elemente und deren chemische Verbindungsformen findet der Leser im folgenden
10 (14.) Kapitel. Über die Baustoffe, d. h. die Endprodukte des aufbauenden Stoffwechsels hat schon der vorhergehende (3.) Abschnitt dieses Handbuches das Wichtigste gesagt.

Unter **Dissimilation** werden die verschiedenen, durch die Lebenstätigkeit direkt oder indirekt bewirkten Zersetzungs- und Abbau-
15 erscheinungen zusammengefaßt, deren wichtigste die die Betriebsenergie liefernden Atmungsvorgänge sind. Gemeinsam mit diesen letzteren behandeln wir aber auch andere Dissimilationsvorgänge, die häufig von der Atmung nicht scharf geschieden werden können, weil es nicht feststeht, ob sie der Schaffung von Betriebsenergie zur Unterhaltung des
20 Lebens oder anderen, etwa ökologischen Zwecken dienen. Näheres darüber wolle man in den §§ 73, 74, 75 nachlesen.

Hier muß noch die Bemerkung angefügt werden, daß Assimilation und Dissimilation zwei so innig miteinander verbundene Prozesse sind, daß es wohl zur Not theoretisch, aber nicht praktisch gelingt, sie scharf
25 zu scheiden. Hierfür zwei Beispiele. Man spricht allgemein von „Assimilation" der Essigsäure durch einen Pilz, der bei alleiniger Darbietung dieser Kohlenstoffquelle wächst, obwohl doch ein, unter Umständen sehr großer, übrigens von dem anderen nicht scharf zu trennender Teil der Säure gar nicht assimiliert sondern verbrannt, dissimiliert, wird, um die
30 zur Assimilation nötige Energie zu liefern. Oder umgekehrt: den mehr oder minder weitgehenden Abbau von Proteinstoffen kann man als Dissimilation bezeichnen, obwohl in jedem einzelnen Falle erst festzustellen wäre, ob solcher Abbau tatsächlich wegen der bei der Dissimilation freiwerdenden Betriebsenergie geschieht, ob er nicht vielmehr
35 darauf hinarbeitet, in den Spaltungsprodukten Bausteine für die Zwecke der assimilatorischen Tätigkeit zu liefern. Und falls er beiden Zwecken dient, liegt ein Prozeß vor, der mit demselben Recht bei den Dissimilations- wie bei den Assimilationsvorgängen behandelt werden könnte. Auch abgesehen von Eiweißstoffen ist es häufig den Nahrungsstoffen
40 nicht anzusehen, ob sie direkt oder erst nach weitgehenden Spaltungen der aufbauenden Tätigkeit verfallen.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen gliedern wir unseren Stoff derart, daß wir, im Anschluß an die Besprechung der Assimilation (nach obigem richtiger: Nahrungszufuhr) in diesem Paragraphen, die Dissimilation
45 in den §§ 73 bis 75, dann einige weitere allgemeine Probleme der Stoffwechselphysiologie in den §§ 76 bis 81 behandeln, hierauf im Kapitel 14 die einzelnen Nährstoffe abhandeln, um ganz zum Schluß einen Blick auf den Kreislauf der Elemente, zumal des Kohlenstoffs, zu werfen, soweit Pilzstoffwechsel dessen treibende Kraft vorstellt. Um Mißverständnissen
50 vorzubeugen, sei noch bemerkt, daß in dem vorliegenden und in dem nächsten Kapitel unter dem Ausdruck „Pilze" immer die Gesamtheit der Eumyceten und Bakterien zu verstehen ist. Um die Uebersicht zu erleichtern, ist in den folgenden Paragraphen da, wo die Heranziehung

einer größeren Zahl von Beispielen erwünscht war, die Reihenfolge derart getroffen worden, daß zuerst die Eumyceten (ausschließlich der Sproßpilze), dann die Sproßpilze und schließlich die Bakterien behandelt werden. Innerhalb dieser drei Untergruppen ist die Reihenfolge tunlichst die chronologische. 5

Die schönsten Erfolge, welche die Physiologie der Ernährung der Pilze in den letzten Jahrzehnten erzielt hat, beruhen auf der Erkenntnis, daß die einzelnen Pilzformen sehr verschiedene Ansprüche an die chemische Qualität des Nährbodens nicht minder als an andere Lebensbedingungen stellen; Universalrezepte für die Herstellung von Nähr- 10 böden, die sich früher wohl dem Fortschritte entgegenstemmten, gibt es nicht, und Arbeiten, die auch heute noch unter Verwendung eines einzigen Züchtungsverfahrens die Anzahl der Pilzkeime, die in einer gegebenen Menge Erde, Wasser oder Luft vorhanden sind, ermitteln wollen, werden sich, soweit sie nicht gänzlich wertlos sind, über kurz 15 oder lange eine weitgehende Nachprüfung ihrer Ergebnisse gefallen lassen müssen. An Stelle des kollektiven Züchtungsverfahrens, welches die Nährböden so zusammensetzt, daß sie möglichst vielen verschiedenen Pilzen genügen, tritt mehr und mehr die von Winogradsky (3) sogenannte „elektive Kulturmethode“, welche die Nährböden den 20 Bedürfnissen der einzelnen, gerade einzufangenden oder zu untersuchenden Wesen anpaßt, und dieser elektiven Methode gehört die Zukunft.

Um auf Grund der ernährungsphysiologischen Anpassung eine vorläufige Einteilung zu gewinnen, kann man zunächst mit Alfr. Fischer (2) **polytrophe** und **monotrophe** Wesen unterscheiden. Zu den ersteren 25 gehören viele der sogenannten banalen Fäulnisbakterien und gemeinen Schimmelpilze usw., kurz Organismen, die eben auf Grund der mangelnden Spezialisierung sich nur allzuhäufig als ungebetene Gäste eindrängen. Als monotroph wären im Gegensatze dazu etwa die Thiobakterien, oder die nitrifizierenden Mikroben zu nennen, ferner die 30 spezialisierten Parasiten, erstere als Beispiele für anspruchslose, letztere als Beispiele für anspruchsvolle Monotrophie. — Forschen wir, um eine tiefer dringende Einteilung zu gewinnen, nach dem Wesen solcher ernährungsphysiologischer Unterschiede, so kann zunächst offenbar der Bedarf an verschiedenen Nährelementen nicht deren Grund sein. Denn 35 elementaranalytische Untersuchungen haben, wie bekannt (11. Kap.), eine weitgehende Aehnlichkeit der Zusammensetzung verschiedener Pilze erkennen lassen, und auch Züchtungsversuche ergaben, daß der Bedarf an Nährelementen kein allzu verschiedener ist. Zwar ist bei dem heutigen Stande der Kenntnisse die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß 40 bezüglich der Notwendigkeit des Kaliums, Natriums, Calciums, Magnesiums und Eisens gewisse Unterschiede zwischen verschiedenen Pilzen bestehen; weitergehende Behauptungen jedoch, etwa diejenige Fermi's (2), daß bestimmte Pilze keinen Stickstoff, oder diejenige Holtermann's (1), daß die von ihm gezüchteten Pilze keine Phosphorverbindungen nötig 45 hätten, sind bisher einer ernsthaften Widerlegung nie gewürdigt worden. Wünschenswert wären allerdings Elementaranalysen von Bakterien mit ganz eigenartigem Stoffwechsel, etwa von Schwefelbakterien. Seit Nathansohn's (1) Entdeckung der Thiobakterien dürfte die Beschaffung reinen Materiales in genügender Menge keine Schwierigkeiten mehr haben. 50

Auch auf das gegenseitige Mengenverhältnis der dargebotenen Nährelemente, welches bei dem Wahlvermögen, das den Pilzen nicht minder eignet als anderen Organismen (vgl. §§ 79, 81, 82), wohl eine

[illegible]

[illegible] z. Ammon reduziert und ob etwa auch Phototrophie des Wasserstoffes vorkommt, ist noch zu untersuchen. Anschließend sei noch bemerkt, daß die Elemente, die als solche in den Stoffwechsel der Pilze hineingerissen werden, auch als solche aus dem Stoffwechsel wieder austreten können, so der Schwefel bei Schwefelbakterien, der Stickstoff bei der Denitrifikation, der Wasserstoff bei vielen Gärungen. Beim Freiwerden von Sauerstoff spielen allerdings im Haushalte der Natur die grünen Pflanzen eine unersetzliche Rolle. Immerhin ist auch im

Reiche der Pilze, und zwar bei den Purpurbakterien durch Engelmann (1), eine Ausscheidung freien Sauerstoffes nachgewiesen worden, ferner auch durch Ewart (s. Pfeffer [3]) bei denjenigen Farbstoffbakterien, welche den Sauerstoff in lockere Bindung überzuführen und aus ihr nach außen wieder abzugeben verstehen (s. § 74).

Weitaus wichtiger und weiter verbreitet als die Prototrophie ist, abgesehen von der Sauerstoffaufnahme, die **Metatrophie.**

Man teilt mit Pfeffer (4), je nachdem anorganische oder organische Nahrung aufgenommen wird, die Metatrophen wiederum in **Autotrophe** und **Heterotrophe** ein. Dabei nimmt man meistens auf das Wichtigste der Nährelemente, nämlich den Kohlenstoff, Bezug; d. h. man nennt autotroph solche Formen, welche Kohlensäure assimilieren, heterotroph hingegen die übergroße Mehrzahl jener anderen Pilze, welche auf Zufuhr organischer Kohlenstoffverbindungen angewiesen sind. Statt die Ausdrücke Auto- bzw. Heterotrophie bloß auf den Kohlenstoff allein zu beziehen, kann man auch in Hinsicht auf jedes andere Element von auto- und heterotropher Aufnahme, z. B. von Stickstoffheterotrophie reden, um anzudeuten, daß nicht nur der Kohlenstoff (Wasserstoff und Sauerstoff), sondern auch der Stickstoff aus organischer Bindung assimiliert wird. Die ausgeprägtesten Fälle von Stickstoffheterotrophie, in welchen der Kohlenstoff nicht nur gemeinsam mit Stickstoff in organischer Bindung, sondern auch zum größeren Teil nebenher aus Kohlensäure aufgenommen wird, Fälle, wie sie nach Beijerinck und Artari für Flechtenalgen gelten, sind bei den Pilzen bisher nicht bekannt geworden. Auch Fälle von Schwefel- und Phosphorheterotrophie usw. sind mehr oder minder genau untersucht worden und werden in den betreffenden Paragraphen des folgenden Kapitels noch eingehender behandelt werden. Schließlich ist noch darauf hinzuweisen, daß man die Bezeichnungen Auto- und Heterotrophie nicht bloß auf den Kohlenstoff allein oder auf diesen und noch eines oder das andere Nährelement, sondern auch auf deren Gesamtheit beziehen kann; dann würde man von Autotrophie sprechen, wenn, wie bei den meisten Chlorophyllpflanzen, die gesamte Nahrung anorganischer Natur ist. Das klassische Beispiel dafür sind die von Winogradsky entdeckten Nitrifikationsmikroben, die nicht nur keiner heterotrophen Ernährung bedürfen, sondern sogar durch solche geschädigt werden, also *obligat autotroph* sind (vgl. das 5. Kapitel des III. Bandes). Das Gegenstück zu solch vollkommener Autotrophie, also vollkommene Heterotrophie, ist nicht bekannt, denn soviel man weiß, kann ein Teil der Nahrung von allen Pilzen in Form von anorganischen Nährsalzen aufgenommen werden. Es ist somit die Mehrzahl der Pilze, wenn man alle Nährelemente in Betracht zieht, mit Pfeffer (4) als **mixotroph** zu bezeichnen.

Scharfe Grenzen zwischen Autotrophie und Heterotrophie bestehen naturgemäß ebensowenig, wie zwischen anorganischer und organischer Chemie. Auch handelt es sich nur um Unterschiede von heuristischer Bedeutung; denn es muß der Wissenschaft als Ziel vorschweben, Organismen, die obligat autotroph sind, unter bestimmten Bedingungen zur Heterotrophie zu zwingen, und umgekehrt ist es wohl keine allzu kühne Hoffnung, daß es gelingen könnte, selbst anspruchsvolle Heterotrophe durch Darbietung geeigneter Energiequellen zur Kohlensäureassimilation zu veranlassen. Ohnehin verlaufen vielleicht bestimmte Phasen heterotropher Kohlensäureassimilation autotroph; dies würde z. B. dann zutreffen, wenn Czapek's (1) Hypothese sich bewahrheiten sollte, daß beim Aufbau des Eiweißmoleküles Alkylamine durch Anlagerung von Kohlen-

säure zu Aminosäuren werden. Auch macht Pfeffer (4) darauf aufmerksam, daß sich unter Umständen vollkommene Autotrophie des Kohlenstoffes hinter scheinbarer Heterotrophie verstecken könnte, und zwar dann, wenn Pilze aus der Oxydation einer zugeführten Kohlenstoffquelle die Energie zur Assimilation der Kohlensäure sich verschafften. Umgekehrt kann sich auch Autotrophie hinter scheinbarer Heterotrophie verstecken. So könnte man in den von Iwanow (1) beschriebenen Versuchen über Ernährung von Pilzen mit Nucleinsäure von Phosphorheterotrophie sprechen, doch ist es wahrscheinlicher, daß der Phosphor erst aus der enzymatisch aus der Nucleinsäure abgespaltenen Phosphorsäure, d. h. autotroph, assimiliert wird.

Welcherlei Stoffe nun zur Ernährung auch dargeboten werden, unter allen Umständen muß Gelegenheit zur Beschaffung der für die Synthesen nötigen Energie geboten sein. Dem wird bei den Pilzen dadurch Rechnung getragen, daß die Nährstoffe zum Teil Körper mit freier Energie sind; d. h. die Pilze verwerten in erster Linie chemische Energie, sie arbeiten nach Pfeffer (4) chemosynthetisch. Daß andrerseits, wie bei grünen Pflanzen, auch strahlende Energie verwertet wird, d. h. Photosynthesen auch im Reiche der Pilze nicht fehlen, lehren die Purpurbakterien. Zum Unterschied von den Chlorophyllpflanzen vermögen diese Organismen auch die dunklen Wärmestrahlen und diese sogar mit besonderem Vorteil zu verwerten. Immerhin ist darauf hinzuweisen, daß der exakte Beweis für diese Behauptung noch aussteht und voraussichtlich so lange ausstehen wird, als synthetische Züchtungsversuche mit diesen seltsamen Organismen nicht gelungen sind. Erst wenn der Beweis erbracht sein wird, daß man mit Recht aus der Sauerstoffabscheidung im Mikrospectrum auf Assimilation der Kohlensäure schließt, wird man das Bestehen von photosynthetisch arbeitenden Pilzen als sicher behaupten dürfen. Und erst wenn weiter nachgewiesen sein wird, daß die Purpurbakterien auch sonst nur auf die Zufuhr total oxydierter Körper angewiesen sind, wird das Dasein von Pilzen, welche, wie die Chlorophyllpflanzen, nur der Zufuhr strahlender Energie benötigen, über allen Zweifel erhaben sein. Wie bekannt, führen Purpurbakterien auch Schwefeltropfen in ihren Zellen; es ist darum wahrscheinlich, daß sie neben strahlender auch chemische, aus der Oxydation von Schwefelverbindungen stammende Energie verwerten. Uebrigens ist es zweifelhaft, ob die fraglichen Tröpfchen durchweg aus Schwefel bestehen.

Anheimelnder als die in den vorhergehenden Absätzen gebrauchte Terminologie klingen die Ausdrücke *Saprophyten* und *Parasiten*, an deren Stelle man in konsequenter Weiterführung obiger Darlegungen die Bezeichnungen *saprotrophe* und *paratrophe* Pilze setzen kann. Jene stammen aus einer Zeit her, in welcher man von Autotrophie bei Pilzen noch nichts ahnte, und dienen dazu, die heterotrophen Pilze in zwei große Untergruppen zu teilen.

Saprophyten heißt man, wie bekannt, die Fäulnisbewohner, **Parasiten** aber solche Pilze, welche sich von der Körpersubstanz *lebender* Wesen nähren. Es leuchtet ein, daß diese Einteilung mehr ökologischer als streng physiologischer Natur ist. Es handelt sich, wie A. de Bary (1) sagt, um Ernährungsadaptationen, und der Forschung obliegt es, das sehr komplizierte und in den einzelnen Fällen sehr verschiedene Wesen des Parasitismus näher zu ergründen. (Siehe das 20. Kapitel.)

Kann man auch von verschiedenen Stufen des parasitischen Lebens

sprechen, so ist doch daran festzuhalten, daß echte Parasiten nur solche sind, die in Symbiose mit ihren Wirten leben und, sobald diese sterben, ebenfalls ihre Entwicklung vorläufig abschließen oder doch in andere Bahnen lenken. Nicht als echte Parasiten zu bezeichnen sind aber diejenigen Pilze, die zwar meist oder häufig andere Lebewesen angreifen, 5 sie aber zuvor, allenfalls Zelle für Zelle, abtöten und dann erst verzehren. Beispiele hierfür sind viele Fäulnispilze, z. B. *Botrytis* u. a. A. DE BARY (1) bezeichnete sie als **Hemiparasiten,** um damit anzudeuten, daß sie häufig erst nach saprophytischer Anzucht befähigt sind, ihre Opfer zu infizieren. C. v. TUBEUF (1) und NORDHAUSEN (1) ziehen die 10 Bezeichnung Hemisaprophyten vor.

Obligate Parasiten sind solche, die in der Natur immer oder doch wenigstens während bestimmter Entwicklungsstadien immer auf anderen Lebewesen angetroffen werden, fakultative solche, die nötigenfalls auch auf toten Massen gedeihen und alle für die Art 15 charakteristischen Formgestaltungen zur Schau tragen können. Von temporärem Parasitismus könnte man dann reden, wenn der Pilz normalerweise während bestimmter Zeiten des Jahres als Parasit lebt, sonst aber als Saprophyt.

Es braucht wohl kaum betont werden, daß der Experimentator 20 zwecks Ergründung des Wesens des Parasitismus versuchen muß, obligate Parasiten, wenigstens im Laboratorium, in fakultative umzuwandeln. Zum Teil ist das schon gelungen. In vielen Fällen handelt es sich nur darum, dem betreffenden Parasiten die richtige Nahrung, Reaktion des Nährbodens, Temperatur usw. zu verschaffen, um ihn als Saprophyten 25 züchten zu können. In anderen Fällen ist man allerdings noch weit von dem bezeichneten Ziele entfernt. Die Parasiten sind häufig anspruchsvolle Stickstoffheterotrophe, welche Proteinstoffe von so geringem Zersetzungsgrade bedürfen, wie sie ihnen im unmittelbaren Kontakte mit lebendem Plasma geboten werden. Die Fähigkeit zum Aufbau des 30 Eiweißmoleküles aus dessen Spaltungsprodukten ist ihnen abhanden gekommen.

Die ganze Frage kompliziert sich dadurch so sehr, daß viele Parasiten in hohem Grade monotroph sind, bloß ganz bestimmte Sippen als Wirte zu benutzen verstehen. Weitere Erschwerung bietet der Wirts- 35 wechsel mancher Parasiten. Wollte man untersuchen, wieweit diese Erscheinungen auf stoffliche Unterschiede der Wirte zurückzuführen sind, so müßte man die schwierigsten Fragen der Biologie aufrollen, Fragen nach der Beziehung zwischen spezifischen Unterschieden und stofflichen Unterscheidungsmerkmalen, nach der Beziehung zwischen 40 Stoff und Form.

Weil in der technischen Mykologie diese Fragen keine allzugroße Rolle spielen, können die gegebenen fragmentarischen Andeutungen hier genügen. Im übrigen sei auf die Darstellung im 20. Kapitel dieses Bandes verwiesen, ferner auf die Handbücher von DE BARY (1) und 45 BREFELD (1, 2), die Lehrbücher der Pflanzenkrankheiten von FRANK (1) und TUBEUF (1), schließlich auf KLEBAHNS (1) Darstellung der wirtswechselnden Uredineen und die an den genannten Stellen citierte Literatur.

Einige Angaben über die Bedingungen der Keimung und der Er- 50 nährung mancher Parasiten findet der Leser auch noch in den §§ 77, 78, 86 und 88 dieses und des folgenden Kapitels.

§ 73. Allgemeines über Dissimilation. Die Sauerstoffatmung.

Unter dem Begriffe Dissimilation fassen wir alle jene Zersetzungserscheinungen zusammen, durch welche, seien sie durch die Lebenstätigkeit direkt oder indirekt bedingt, Stoffe mit relativ hoher freier Energie in solche mit niederer oder ohne freie Energie übergeführt werden und dem Organismus Betriebsenergie verschaffen. Bei unseren so sehr im argen liegenden Kenntnissen, ist, wie schon zu Anfang dieses Kapitels betont wurde, die Möglichkeit nicht gegeben, von solchen energieliefernden Prozessen andere Zersetzungsvorgänge zu trennen, die voraussichtlich in erster Linie anderen Zwecken dienen, etwa der Lieferung von Bausteinen, der Schaffung von Kampfstoffen, oder zum Teil vielleicht auch nur biologisch bedeutungslose Begleit- oder Folgeerscheinungen anderer Stoffwechselvorgänge sind. Dies letzte gilt z. B. nach Beijerinck und Molisch (2) für das Leuchten der Bakterien und höheren Pilze. Es seien darum an dieser Stelle alle derartigen Dissimilationen, soweit sie eine gewisse Bedeutung haben und größeren Umfang erreichen, besprochen, und es muß zukünftiger Forschung die Entscheidung darüber überlassen bleiben, welche von jenen tatsächlich Kraftquellen sind, und welche nicht.

Vor allem ist es eine alte, noch ungelöste Streitfrage, ob aus Gründen, die unbekannt wie das Leben selbst sind, lebendige Substanz in einem Zustande dauernden Zerfalles und Wiederaufbaues begriffen ist; und so lange die chemische Beschaffenheit der lebenden Substanz nur insoweit bekannt ist, als man weiß, daß Eiweißkörper eine wesentliche Rolle in ihr spielen, läßt sich von dieser Frage die weitere nicht wohl scharf trennen, ob dauernde Eiweißzersetzungen mit jeglicher Lebenstätigkeit verknüpft sind. Weil aber kaum ein Zweifel darüber obwalten kann, daß unter bestimmten Bedingungen, z. B. beim Mangel an Kohlenhydraten, Proteindissimilation für andere, normalerweise als Kraftquellen wirkende Prozesse eintreten kann, und sei es auch nur, um den Kohlenhydratkern aus dem Eiweiß zwecks Veratmung abzuspalten, weil ferner die meisten Forscher der Wahrscheinlichkeit einer dauernden Eiweißzersetzung das Wort reden, sei hier zunächst ein Blick auf dies Gebiet geworfen, wobei betont sein soll, daß nur einige in prinzipieller Hinsicht wichtige Arbeiten herausgegriffen werden können; wegen aller Einzelheiten, insbesondere auch betreffend die Spaltungsprodukte, sei auf das 4. Kapitel des III. Bandes dieses Handbuches verwiesen. Weil die Frage ferner innig mit der nach der Bildung proteolytischer Enzyme verquickt ist, so sind auch die Angaben im § 80 des vorliegenden Kapitels zu vergleichen, wie auch noch ganz besonders der vorausgehende § 64 dieses (I.) Bandes, das 9. Kapitel des II. Bandes und der Sechste Abschnitt des IV. Bandes.

Die Betrachtung der **Zersetzung der Proteine** wollen wir bei den Schimmelpilzen und Hutpilzen beginnen. Bei den ersteren tritt uns die Fähigkeit zur Zerlegung von Proteinkörpern, wie bekannt, schon durch die Verflüssigung von Gelatine entgegen, worüber man sich in den Mitteilungen von Wehmer (3) und Will (1) orientieren kann. Was die aus der Eiweißzersetzung hervorgehenden Stoffe betrifft, so wußte schon Nägeli (1, 2), daß die bereits aus der Beobachtung natürlicher Verhältnisse zu erschließende **Abspaltung von Ammoniak** auch in der Zucht nachgewiesen werden kann. Genauer verfolgte diesen Vorgang

WEHMER (5), der in Zuchten des *Aspergillus niger* in Peptonlösung reichliche Bildung von Ammoniak und eine durch diese regulatorisch verursachte Ansammlung von Oxalat beobachtete, weiter auch feststellte, daß ein Zusatz von Zucker und anderen Kohlenstoffquellen diese Zersetzung des Peptons einschränken kann (s. § 79). WEHMER sah auch 5 das Auftreten von Ammonsalzkristallen in verflüssigter Gelatine. Einige weitere Angaben über Ammoniakbildung aus Proteinen durch Schimmelpilze verdankt man einer noch weiter unten anzuführenden Arbeit von MARCHAL (1), ferner KLEBS (3), der nachwies, daß *Saprolegnia mixta* aus Pepton Ammoniak abspalten kann. Daß auch 10 Zwischenstufen dieses Abbaues des Proteines nachgewiesen werden können, ging aus der Arbeit von HJORT (1) hervor, welcher die Bildung von Leucin und Tyrosin aus Fibrin unter der Einwirkung eines Extraktes aus Agaricineenhüten nachwies, ferner aus der Mitteilung von BOURQUELOT und HÉRISSEY (1), welche durch einen 15 Extrakt aus den Hüten von *Amanita* und *Clitocybe* Tyrosinbildung aus Casein bewirken konnten. Genauere Untersuchungen an Schimmelpilzen verdankt man aber erst BUTKEWITSCH (1). Ihm zufolge bilden *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Mucor racemosus* und *Rhizopus nigricans* aus Pepton (Witte) und Fibrin nicht bloß Ammoniak sondern als Zwischen- 20 stufen auch Aminosäuren (Leucin und Tyrosin). Während bei *Aspergillus* sich wesentlich bloß Ammoniak, hingegen die Aminosäuren nur in geringer Menge nachweisen ließen, war das Verhältnis bei den anderen der oben genannten Pilze gerade umgekehrt. Es wäre jedoch verfehlt, aus dieser Beobachtung auf ein spezifisch verschiedenes Spaltungsver- 25 mögen zu schließen; der Unterschied beruht, wie schon WEHMER angedeutet hat, darauf, daß *Aspergillus* viel Oxalsäure hervorbringen und dadurch große Mengen von Ammoniak binden kann. Diese Fähigkeit kommt den anderen genannten Arten nicht in gleichem Maße zu; diese würden sich somit durch Abspaltung größerer Mengen von 30 Ammoniak das Grab graben, lassen es darum im wesentlichen bei der Spaltung zu Aminosäuren bewenden. Durch alle Mittel, welche die Befähigung des *Aspergillus* zur Oxalsäurebildung hinabdrücken, kann man auch in dessen Zuchten die Entstehung von Ammoniak hemmen und die Ansammlung der genannten Aminosäuren im selben Maße steigern. Auch 35 andere Bedingungen, welche die Bildung von Ammoniak herabsetzen, z. B. Erschwerung des Luftzutrittes, fördern die Ansammlung von Aminosäuren bei *Aspergillus*. Umgekehrt kann man bei den anderen Pilzen (*Penicillium* etc.) die Ammoniakbildung steigern, wenn man durch genügende Zugabe von Phosphorsäure für Neutralisierung des entstehen- 40 den Ammoniaks sorgt. Für *Aspergillus* stellte BUTKEWITSCH ferner fest, daß auch das der Nährlösung von vornherein zugesetzte Leucin, Tyrosin und Asparagin unter Ammoniakbildung zersetzt wird. Vom Asparagin wird dabei sowohl der Ammon- wie der Amidstickstoff abgespalten. Diese Zersetzungen gehen also ebensowohl bei Anwesenheit wie bei Abwesen- 45 heit von Pepton vor sich. SHIBATA (1) berichtet neuerdings ebenfalls über ein Enzym des *Aspergillus niger*, welches Amidkörper spaltet. In seinen Untersuchungen über enzymatische Eiweißzersetzung teilt VINES (1) die Proteasen ein in: Pepsine, welche kräftig peptonisieren, aber nicht peptolysieren, Trypsine, welche peptonisieren und peptolysieren, 50 und schließlich Erepsine, welche schwach peptonisieren und kräftig peptolysieren. Im Auszuge von Champignonhüten konnte nun dieser Forscher zwei Proteasen nachweisen, eine peptonisierende, Fibrin in

ist, daß sie direkt unter dem Mikroskope verfolgt werden kann. Diesem Forscher zufolge soll die Bedeutung der auch am natürlichen Standort so häufigen Kolonienbildung gerade darin zu suchen sein, daß die Eiweißkörper der absterbenden Individuen anderen Vertretern derselben Art zugute kommen. 5

Wir wenden uns nunmehr der Dissimilation im engeren Sinne, also der **Atmung,** zu. Wir unterscheiden zwischen Sauerstoffatmung und Spaltungsatmung (intramolekularer Atmung). Pilze, die zur Unterhaltung ihrer Lebenstätigkeit Sauerstoffatmung durchführen müssen, nebenher aber selbstverständlich auch Spaltungen ausführen können, nennen 10 wir **obligat aerob.** Solche, die sowohl bei Sauerstoffzutritt als auch, wenngleich in manchen ihrer Lebensäußerungen beeinträchtigt, ohne freien Sauerstoff leben können, sind **fakultativ anaerob.** Als **fakultativ aerob** würden solche Wesen zu bezeichnen sein, welche unter bestimmten Bedingungen ohne Sauerstoff besser als mit diesem Gase gedeihen, z. B. 15 thermophile Bakterien bei einer für ihre Verhältnisse niederen Temperatur (37°; Rabinowitsch [1]). Solche Wesen schließlich, welche nur bei Ausschluß von freiem Sauerstoff gedeihen können, heißen **obligat anaerob.** Ob es tatsächlich obligat Anaerobe gibt, die alle Lebensäußerungen und Formgestaltungen nur bei Abwesenheit von freiem 20 Sauerstoff ausführen können, ist zweifelhaft, seitdem Migula (s. Bd. I, S. 112) und Matzuschita (2) nachgewiesen haben, daß die von ihnen untersuchten obligat anaeroben Spaltpilze ihre Sporen auch bei Luftzutritt bilden können. Nähere Angaben darüber sind im § 78 und auch bei Pfeffer (4, Bd. II, S. 135) zu finden. Als **temporär anaerob** hat man solche 25 Wesen bezeichnet, die, wie Pasteur an den Hefen festgestellt hatte, eine gewisse Anzahl von Generationen hindurch bei geeigneter Ernährung des freien Sauerstoffes entraten können, ohne zu sterben. Da aber auch alle obligat Aeroben, unter richtig gewählten Versuchsbedingungen, wenn auch meistens nur eine kurze Spanne Zeit, auf Kosten von Spaltungen 30 ohne Sauerstoff leben können, sind diese eigentlich in ihrer Gesamtheit als temporär anaerob zu bezeichnen. Beijerinck nimmt an, daß alle fakultativ Anaeroben tatsächlich nur temporär anaerob seien. Wie Pfeffer (4, Bd. I, S. 536) ausführt, wird es bei den heutigen Erfahrungen wohl unmöglich sein, diese Frage zu entscheiden. 35

Wir fügen hier zunächst über die **Bedeutung der Atmung** eine kurze Betrachtung an, wesentlich in Anlehnung an die Ausführungen Pfeffer's (4, Bd. II, S. 875). Man bezeichnet die Atmung als energieliefernden Prozeß. Und tatsächlich ist es auch klar, daß, wie für alle Tätigkeit so auch für die der lebenden Zelle, energieliefernde Prozesse unerläßlich sind. 40 Ueber dieser Erkenntnis darf aber nicht vergessen werden, daß noch die Einsicht darin fehlt, warum die Erhaltung des Lebens und seiner Arbeitsleistungen stets mit der Auslösung chemischer Energie verknüpft sein muß; es ist dies um so weniger einzusehen, als gerade die typischsten Arbeitsleistungen, etwa Außenarbeit durch Turgordehnung, unter Wärme- 45 bindung verlaufende Vorgänge sind, ohne daß die dabei verbrauchte Wärme unmittelbar chemischen Prozessen, die mit dem arbeitenden System zeitlich und räumlich verknüpft sind, zu entstammen brauchte. Die Wissenschaft muß sich bei dieser Sachlage damit begnügen, die Verwendung chemischer Energie im Lebensprozesse so zu erklären, daß 50 diese eine „sehr bequeme, weil konzentrierte und leicht aktivierbare Dauerform der Energie“ vorstellt. Erwähnt wurde schon, daß viele Atmungsvorgänge mit aufbauenden direkt verknüpft, „verkoppelt“ sind,

insofern die veratmeten Stoffe die zu assimilierenden unter Verminderung ihrer freien Energie auf höheres chemisches Niveau heben. Die Frage, ob auch ausgewachsene Teile ihren Leib dauernd zerfällen und wieder aufbauen, mußten wir offen lassen. Weil die Atmungsvorgänge arbeit-
5 leistende Prozesse sind, und weil solche innerhalb der Temperaturgrenzen, zwischen denen das Leben sich abspielt, größtenteils exothermisch verlaufen, gehen auch die Atmungsvorgänge unter positiver Wärmetönung vor sich; die geleistete Arbeit tritt, soweit sie nicht im Inneren gespeichert wird, allenfalls nach vorhergegangener Umwandlung, als
10 Wärme nach außen. PFEFFER weist darauf hin, daß diese positive Wärmetönung nicht nur für den Betriebsstoffwechsel aller aeroben, sondern wahrscheinlich auch für den aller anaeroben Wesen gilt, daß aber immerhin nicht sicher ist, ob nicht deren Stoffwechsel unter Umständen auch unter negativer Wärmetönung verlaufen kann. Dies ist
15 um so eher denkbar, als auch endotherme Prozesse Arbeit leisten können.

Wir betrachten zunächst den Einfluß äußerer und innerer Bedingungen auf die Sauerstoffatmung und beginnen bei dem **Einfluß der Sauerstoffdichte.** Dabei wird es sich empfehlen, nicht bloß die Beeinflussung der Atmung sondern auch noch anderer Lebensfunktionen,
20 z. B. des Wachstums etc., mit abzuhandeln. Vor allem ist zu betonen, daß feste Grenzen zwischen Sauerstoffatmung und Spaltungsatmung schon darum nicht vorhanden sind, weil bei den Aerobionten recht verschiedene Ansprüche an die Tension des Sauerstoffes gestellt werden. So erkannte WINOGRADSKY (1) die Beggiatoen als Pilze, welche einer
25 geringen Sauerstoffdichte angepaßt sind. Auch BEIJERINCK (6) hat sich durch den nachdrücklichen und öfters wiederholten Hinweis auf die Tatsache, daß die Aeroben ein spezifisch verschiedenes Sauerstoffoptimum haben, große Verdienste erworben, worüber das 18. Kapitel Näheres besagt. Seiner Hypothese, daß es überhaupt keine anaeroben Wesen gebe,
30 daß vielmehr bei den sog. Anaeroben nur das Optimum und das Maximum des Sauerstoffgehaltes sehr tief liegen, fehlt jedoch, wie er selbst hervorhebt, noch der bindende Beweis; wichtige Tatsachen stehen ihr entgegen. Näheres darüber im § 74 sowie auch im 23. Kapitel vorliegenden Bandes.

35 Uebrigens wäre es ein Fehlschluß, die Intensität der Atmung mit der Dichte des Sauerstoffes und der Lage des Sauerstoffsoptimums in Parallele zu setzen; sie ist vielmehr in weitgehendem Maße davon unabhängig und in erster Linie durch spezifische Eigenschaften bedingt. Gerade die oben genannten Schwefelbakterien unterhalten sehr lebhafte
40 Oxydationen, obwohl sie berufen sind, den Sauerstoff aus relativ starker Verdünnung zu schöpfen. Fragen wir zuerst nach der **unteren Grenze der Sauerstoffdichte**, bei welcher aerobe Arten noch leben können, so zeigt sich, daß viele ausgesprochen Aerobe noch bei erstaunlich niederem Drucke leben und gedeihen. MATZUSCHITA (2) fand neuer-
45 dings, daß *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides* u. a., auf Agar gezüchtet, noch bei so geringem Sauerstoffgehalt, wenn auch spurenweise, wachsen können, daß dieser Forscher geneigt ist, ihnen eine (wenn auch stark beschränkte) Wachstumsfähigkeit bei ganz vollkommenem Ausschluß von Sauerstoff zuzuschreiben. WIELER (1) hat innerhalb der Gruppen
50 der Schimmel- und Hutpilze schon im Jahre 1883 bemerkt, daß *Coprinus lagopus* auf Pferdemist und *Mucor mucedo* und *Phycomyces nitens* auf zuckerhaltigem Brote gezüchtet sich noch bei einem Drucke von wenigen Millimetern ganz gut entwickeln. In betreff der **oberen Grenze** der

Sauerstoffdichte verdanken wir JENTYS (1) die Angabe, daß *Phycomyces* seine Atmung in reinem Sauerstoff nur wenig beschleunigt, das Wachstum ganz wie unter den gewöhnlichen Bedingungen unterhält. An allen von ihm daraufhin untersuchten Bakterien bemerkte FRÄNKEL (1), daß sie in Sauerstoff zum mindesten ebensogut wie in Luft gedeihen, einige 5 sogar eher besser; jene, welche Farbstoffe bilden, erhöhen diese ihre Tätigkeit in reinem Sauerstoff. Betreffs des Leuchtens fand FABRE (1) schon vor einem halben Jahrhundert, daß *Agaricus olearius* in Sauerstoff heller leuchtet als in Luft. Schädigungen treten erst bei höherem Sauerstoffdrucke ein: JENTYS fand das Wachstum des *Phycomyces* erst bei 5 at 10 Sauerstoffdruck gehemmt. Die durch erhöhte Sauerstoffpressung bewirkte Schädigung ist nicht etwa auf mangelnde Oxydationsfähigkeit des komprimierten Gases, auch nicht auf eine übers Maß gesteigerte Atmung, sondern auf eine noch zu erklärende spezifische Giftigkeit desselben, kombiniert mit der physikalischen Druckwirkung zurückzuführen. Daß 15 zufolge JENTYS schneller Druckwechsel häufig stärker schädigt als die schließlich erreichte Druckhöhe, kann nicht wundernehmen. In hohem Maße zu beachten ist nun, daß die ermittelten Befunde nur für die jeweiligen Versuchsbedingungen gelten, da sich mit diesen die Reaktionen der Pilze auf wechselnden Sauerstoffdruck verschieben. Daß in dieser Hin- 20 sicht auch die **Art der Ernährung** wesentlich mitwirkt, zeigte CHUDJAKOW (1). Bei guter Ernährung (d-Glucose mit Albumose) wuchs *Bac. subtilis* eben noch bei 10 mm Druck, bei minderwertiger Ernährung aber nur bei höherem Drucke. Analoges gilt für *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*. Wenn also MATZUSCHITA für *Bac. subtilis* (s. oben) tiefer 25 liegende Grenzen gefunden hat, so könnte dies möglicherweise an der verschiedenen Ernährung liegen; vielleicht zeigen aber auch verschiedene „Stämme“ einer Spezies ein verschiedenes Verhalten (siehe darüber weiter unten). Auch für die obere Grenze gilt nach CHUDJAKOW, daß die Empfindlichkeit mit der Ernährung wechselt. *Bac. subtilis*, mit 30 Albumose und d-Glucose gefüttert, gedeiht in reinem Sauerstoff nicht so gut wie dann, wenn Glucose fehlt. In komprimiertem Sauerstoff wächst er bei Darbietung von Albumose und d-Glucose überhaupt nicht; wohl aber sogar noch bei höheren Drucken, wenn Albumose und Glycerin zusammen geboten werden. In betreff der Abhängigkeit des Verlaufes der 35 Nitrifikation von der Sauerstofftension sei auf das 5. Kapitel des III. Bandes verwiesen. Die Beeinflussung der verschiedenen Gärungen durch die Größe der zutretenden Mengen von Sauerstoff wird in den betreffenden Kapiteln des Handbuches betrachtet werden; einiges darüber wird aber auch schon in diesem und dem nächsten Paragraphen zu 40 sagen sein.

Wir fragen nun nach den **Stoffen, die der Atmung verfallen.** Diese sind entweder organischer oder, bei gewissen Bakterien, auch anorganischer Natur. Von organischen Stoffen verschwinden dabei, wie das Mikroskop oder die chemische Analyse erkennen läßt, alle mög- 45 lichen, wie Fette, Kohlenhydrate, organische Säuren usw., sei es, daß diese als solche von außen aufgenommen oder im Inneren der Zellen erst gebildet werden. Die Verbrennung verläuft entweder derart, daß die einzelnen Phasen sehr schnell aufeinanderfolgen, so daß alsbald Kohlensäure und Wasser als Produkte der vollständigen Oxydation er- 50 scheinen, oder aber die Phasen folgen langsamer aufeinander, so daß Zwischenprodukte in größerer oder geringerer Menge für längere oder kürzere Zeit sich ansammeln. Daß verschiedene Stoffe sich nötigenfalls

bei der Atmung gegenseitig vertreten können, ist schon erwähnt worden, und soll hier nur noch durch ein Beispiel belegt werden. Wie KOSIŃSKI (1) fand, hört bei plötzlichem Nahrungsentzug die Atmung des *Aspergillus niger* zunächst auf, um dann, wenn auch mit ver-
5 minderter Kraft, wieder einzusetzen, offenbar weil nunmehr, der Notlage entsprechend, andere Stoffe, die eigentlich für das Wachstum bestimmt waren, der Atmung verfallen. Ueber eines der schwierigsten Kapitel der Biologie, den Mechanismus der Atmung, haben wir uns hier nicht zu äußern, da andere Kapitel des Handbuches bestimmt sind,
10 die Frage zu erörtern, inwieweit enzymatische Wirkungen, Eingreifen von Oxydasen (s. d. 27. Kap.) usw. mitspielen. Nur noch das eine sei bemerkt, daß man aus dem Verschwinden der oben genannten Stoffe nicht erschließen kann, ob sie unmittelbar veratmet werden oder aber dem Wiederaufbau anderer, ihrerseits veratmeter Stoffe, z. B.
15 Proteine, dienen. Dafür, daß sie aber mindestens zum Teil unmittelbar veratmet werden, sprechen, abgesehen von den Ergebnissen der neueren enzymologischen Forschungen, mit großer Wahrscheinlichkeit die oben erwähnten Fälle stufenweiser Veratmung, ganz besonders aber die eigenartigen Vorkommnisse der Veratmung anorganischer Körper. Nachdem
20 zuerst WINOGRADSKY (1) in seinen Untersuchungen über Beggiatoen die Oxydation des Schwefelwasserstoffes durch diese Bakterien (s. 8. Kap. d. III. Bds.) dargetan hatte, legte er später solche von Ammoniak durch Nitritmikroben und von Nitriten durch Nitratbakterien dar. (Ueber Eisenbakterien s. 7. Kap. d. III. Bds.). Neuerdings entdeckte NATHANSOHN (1)
25 Schwefelbakterien des Meerwassers, welche Thiosulfate, vielleicht auch Sulfide, oxydieren, und BEIJERINCK (10) erwies das Vorkommen der letztgenannten oder doch ähnlicher Formen auch auf dem Lande. Offenbar handelt es sich in diesen Fällen anorganischer Oxydation in erster Linie um die Beschaffung von Betriebsenergie zwecks Assimilierung
30 der Kohlensäure oder auch anderer einfacher Kohlenstoffverbindungen (vgl. § 74 und § 88). Für die Theorie der Atmung wäre es von großem Werte zu wissen, ob durch die eben bezeichneten Bakterien außer diesen anorganischen auch organische Stoffe veratmet werden. Es läßt sich nach den vorliegenden Erfahrungen darüber nur soviel sagen, daß
35 bis jetzt der Nachweis einer solchen organischen Atmung, Exhalation von Kohlensäure, nicht hat erbracht werden können. Man vergleiche darüber insbesondere die Arbeiten von WINOGRADSKY über Nitrifikation (5. Kap. d. III. Bds.). Für die durch ihn aufgefundenen Thiobakterien konnte NATHANSOHN wahrscheinlich machen, daß sie Zucker nicht zu
40 Kohlensäure verbrennen können. Ob nicht trotzdem Spaltungen oder Oxydationen organischer Stoffe mit dem Leben solcher Bakterien verknüpft sind, steht allerdings dahin. Für die Erkenntnis des Mechanismus dieser anorganischen Atmungsvorgänge wird wohl die Beobachtung NATHANSON's von Bedeutung werden, daß bei den durch ihn studierten
45 Schwefelbakterien extracellulär wirkender, aktivierter Sauerstoff auftritt.

Wir wenden uns nun der Besprechung der **stofflichen Produkte der Atmung** zu. Erledigen wir zunächst mit wenigen Worten die anorganischen Atmungsvorgänge, so sind als deren Produkte zu nennen: Schwefel, Sulfate, Tetrathionate, Nitrite, Nitrate. Als gasförmige
50 Endprodukte der normalen, organischen Atmung sind Kohlensäure und Wasser allbekannt. Erwähnt wurde ferner schon oben, daß die Atmung nicht selten eine unvollständige Oxydation ist, die unter Ansammlung verschiedener Produkte verläuft, welche im Zellinnern

oder in der Nährlösung aufgestapelt werden, oder aber unter Umständen auch wieder in den Stoffwechsel gerissen und gänzlich oxydiert werden können. Unter welchen Umständen Ammoniak (oder andere Basen) gebildet und angesammelt werden, ist oben schon erwähnt worden. Das Ammoniak kann dabei entweder gasförmig nach 5 außen entweichen, oder in der Nährlösung als Salz gelöst bleiben, um allenfalls später der Stickstoffassimilation zu dienen. Gehen wir nun zunächst auf die wichtigsten **Produkte der unvollständigen Oxydation,** die organischen Säuren ein, jedoch nur, um die in prinzipieller Hinsicht wichtigsten Ergebnisse der Forschung kennen zu lernen. Einzelangaben 10 findet man dann im § 79 dieses und im § 88 des nächsten Kapitels, noch mehr aber in den verschiedenen Abschnitten dieses Handbuches, welche von organischen Säuren handeln, also ganz besonders im Sechsten Abschnitt des V. Bandes.

Wie bei höheren Pflanzen, so ist auch bei Schimmelpilzen die 15 **Oxalsäure** weit verbreitet. Nachdem bereits de BARY (2) und Ad. HANSEN (1) dieselbe als Durchgangsprodukt des abbauenden Stoffwechsels angesprochen hatten, studierte WEHMER (1, 2) eingehend die Bedingungen für deren Bildung an Zuchten des *Aspergillus niger.* Beim Temperaturoptimum (über 30 Grad) in zusagenden, kalkfreien Nähr- 20 lösungen gezüchtet, sammelt der Pilz Oxalsäure, wenn überhaupt, so nur in ganz geringer Menge an. Daß sie aber ein Durchgangsprodukt der Dissimilation darstellt, welches nach Maßgabe seiner Entstehung sofort wieder verbrannt wird, läßt sich leicht dadurch nachweisen, daß zugesetzter kohlensaurer Kalk ihre Ansammlung in Form von Kalkoxalat 25 bewirkt. Bei niederer Temperatur, etwa der des Laboratoriums, gezüchtet, zeigt der Pilz entweder die Bildung freier Oxalsäure, z. B. bei Zufuhr von Ammoniumnitrat, oder es zeigt sich sowohl freie Säure als auch Oxalat, z. B. bei Zufuhr von Alkalinitrat als Stickstoffquelle, oder aber es bildet sich schlechterdings Oxalat, z. B. bei Fütterung mit 30 Pepton, in welchem Falle das abgespaltene Ammoniak für Bindung und Ansammlung der Oxalsäure sorgt. Das Maß ihrer Ansammlung wird also wesentlich durch Basen reguliert, sei es, daß diese durch den Stoffwechsel gebildet werden (Ammon aus Pepton) oder daß sie in weniger hohem Maße verbraucht werden als Säuren (Alkalinitrate als Stickstoff- 35 quelle). Derselbe Erfolg einer reichlichen Oxalatansammlung ist natürlich auch durch Zugabe von Alkali (KOH, NaOH usw.) oder eines Kalksalzes zu erreichen. Sorgt man umgekehrt dafür, daß nicht Basen sondern Säuren durch den Stoffwechsel verfügbar werden, so unterbleibt jede Oxalsäureansammlung, z. B. bei Zufuhr von Ammoniumsulfat oder 40 Ammoniumchlorid als Stickstoffquelle. Die Art und Weise der Kohlenstoffzufuhr hatte, den Versuchen WEHMER's zufolge, nur insofern eine Bedeutung, als bei Verarbeitung der Kohlenstoffquelle die Reaktion der Nährlösung und dadurch die Ansammlung von Oxalat beeinflußt werden kann. Bei Darbietung von Weinsäure als Kohlenstoffquelle zeigt sich 45 z. B. keine Bildung bzw. Ansammlung; Zufuhr von weinsaurem Ammon hat bevorzugten Verbrauch der Weinsäure und dadurch Ansammlung von Ammoniumoxalat zur Folge. Wenn somit Oxalsäure auch als Produkt unvollständiger Oxydation zu betrachten ist, so wird deren Bildung doch nicht, wie DUCLAUX meinte, durch mangelhaften 50 Luftzutritt sondern durch die Temperatur und durch die chemische Reaktion reguliert. Wenn bei niederer Temperatur sich unter bestimmten Bedingungen freie Oxalsäure ansammelt, bei höherer (in

[illegible] Tem-
peratur [illegible] der Säure ge-
[illegible] Wehmer (2) [illegible] nachweisen, daß
[illegible] Oxalsäure bei [illegible] Temperatur vom Pilze verbrannt
[illegible] Auch [illegible] ist
[illegible] der Pilz, falls
[illegible] Temperatur [illegible] die freie Säure
als Kampfmittel, weit nötiger hat als bei höherer Temperatur. Durch-
aus im Einklang damit fand dann Wehmer [illegible], daß bei niederer
Temperatur *Aspergillus* durch freie Oxalsäure [illegible] weniger ge-
schädigt wird als bei höherer. Die Oxalsäureversuche Wehmer's wurden
neuerdings von Emmerling (1) wieder aufgenommen. Bei Verwendung
verschiedener Kohlenhydrate, höherer Alkohole und nicht amidierter
Säuren als Kohlenstoffquelle und Ammoniumsalzes als Stickstoffquelle
ergab sich, wie nach Wehmer zu erwarten war, keine Oxalatansamm-
lung, offenbar weil durch den Verbrauch des Ammons nicht basische
sondern saure Reaktion der Nährlösung zustande kam. Nicht so ein-
heitlich war das Ergebnis bei Verwendung organischer Kohlenstoff-Stick-
stoff-Quellen. Im allgemeinen war das Wachstum der Oxalatansamm-
lung proportional, jedoch mit Ausnahme der Zucht mit salzsaurem?-
Glucosamin, welche kräftiges Wachstum ohne Oxalatansammlung ergab.
Im übrigen zeigte sich Oxalatansammlung bei Darbietung von Glycocoll,
α-Serin, Asparaginsäure, Asparagin, Phenylalanin (wenig), *α*-Pyrrolidin-
carbonsäure, Gelatine, Casein, Eieralbumin, Witte-Pepton. Besonders
das letzte lieferte reichliche Mengen von Ammoniumoxalat. Kein
Oxalat und nur mäßiges Wachstum ergaben Hippursäure, ferner die
Diaminosäuren (Arginin, Histidin, Lysin), bernsteinsaures und äpfelsaures
Ammon. Da Emmerling fand, daß die Oxalsäure, wo sie sich zeigte,
stets als Ammonsalz auftrat, stimmen die Ergebnisse ziemlich mit den-
jenigen Wehmer's überein (Regulierung der Ansammlung durch Basen).
Ob noch andere Momente in Betracht kommen, ließe sich bloß dann
sagen, wenn die Einzelheiten der Versuchsanstellung etwas genauer
dargelegt wären. Ganz neuerdings fand Heinze (1), daß *Aspergillus
niger*, wenn er mit wenig Stickstoff vorlieb nehmen muß, auffallend viel
größere Mengen von Oxalsäure bildet, als wenn ihm von jenem Stoffe
genug geboten wird. Eine nicht eben erfreuliche Erschwernis erleidet
die ganze Frage dadurch, daß zufolge Wehmer (7) bestimmte Stämme
des *Aspergillus niger* überhaupt nicht befähigt sind, Oxalsäure oder
Oxalate in meßbarer Menge anzusammeln. Ergänzende Bemerkungen
dazu findet man im 11. Kapitel des IV. Bandes.

Während, wie bekannt, auch viele andere Schimmelpilze Oxalsäure
und Oxalate hervorbringen, bilden, wie ebenfalls Wehmer (4 u. 6)
zeigte, bestimmte Mucorarten, ferner *Citromyces* Citronensäure. Da diese
Säure bei Darbietung von Kohlenstoffquellen mit normaler Kohlenstoff-
kette (Zucker etc.) entsteht, konnte Wehmer darauf hinweisen, daß es
den Pilzen nicht schwer fällt, weitgehende molekulare Umlagerungen in
ihrem Stoffwechsel zu erzwingen.

Bei der großen Bedeutung, welche organische Säuren für die Hefen
und deren Gärtätigkeit haben, wird der Leser viele Angaben über die
Beziehungen dieser Organismen zu jenen in den verschiedenen, die
alkoholische und andere Gärungen behandelnden Kapiteln des vor-
liegenden Handbuches finden. Hier sei bloß noch auf die Arbeit
Meissner's (1), welcher für viele (35) verschiedene Kahmhefen und

hautbildende Saccharomyceten nachwies, daß, ganz ähnlich wie in den Versuchen WEHMER's, die Höhe der Säuerung immer das Ergebnis zweier Vorgänge ist, der Bildung und der Wiederzerstörung der Säure. Sind beide gleich stark, so kann der ursprüngliche Säuregehalt des Mostes gewahrt bleiben. 5

Was die **Säuerung des Nährbodens durch Spaltpilze** betrifft, so ist diese, wie bekannt, auch vielfach durch Oxydationen von Zucker etc., wobei organische Säuren entstehen, zu erklären. Statt die ungeheure Literatur, die sich mit dieser Frage beschäftigt, zu citieren, müssen wir uns an dieser Stelle begnügen, im Anschluß an die obigen Ausführungen 10 über Oxalsäurebildung durch Schimmelpilze auf die eingehende Arbeit BANNING's (1) zu verweisen, der eine sehr große Anzahl verschiedener Spaltpilze auf die Fähigkeit, aus verschiedenen Stoffen Oxalsäure zu bilden, untersucht hat. Es zeigten sich die mannigfaltigsten Unterschiede. So konnte von Kohlenhydraten, die als beste Quelle für Säure- 15 bildung gelten, doch nur die d-Glucose von allen untersuchten Bakterienarten in Oxalsäure übergeführt werden. Von Fettsäuren, die eine nur mäßig gute Quelle der Säurebildung vorstellen, wurde nur Glycolsäure von allen Bakterien, die sich mit deren Hilfe entwickeln konnten, in Oxalsäure umgewandelt. In betreff der Alkohole sei auf BANNING's um- 20 fangreiche Tabellen verwiesen.

Stoffe, die von keiner der untersuchten Arten in Oxalsäure verwandelt werden konnten, waren: Harnsäure, Kreatin, Kreatinin, aromatische Säuren. Von technisch wichtigen Bakterien wurden u. a. die Essigbildner untersucht, mit dem Resultate, daß nur der Zucker durch 25 alle, andere Stoffe hingegen nur durch eine Minderheit der Arten in Oxalsäure überführt wurden.

Nach den Resultaten WEHMER's an *Aspergillus* wird es nicht wundernehmen, zu hören, daß auch die sonstige Beschaffenheit des Nährbodens von ausschlaggebender Bedeutung ist, und nicht etwa bloß spezifische 30 Bedingungen und die Art der Kohlenstoffquelle: *Bact. acidi oxalici* und *B. xylinum* brachten Oxalsäure wohl auf Biergelatine, nicht aber auf Maltose und Dextrin hervor. Ungestörter Sauerstoffzutritt erhöhte die Säurebildung; auf festen Nährböden entstanden infolgedessen größere Säuremengen als in Lösungen. In methodologischer Hinsicht sei be- 35 merkt, daß BANNING die Säurebildung meist an dem Auftreten von Kristallen von oxalsaurem Kalk in den gelatinierten Nährböden erkannte. Einige weitere Angaben über Säurebildungen durch Bakterien finden sich im § 88.

Wir wenden uns der Betrachtung des typischen Endproduktes 40 der normalen Atmung, der **Kohlensäure** zu. Es ist zuerst darauf hinzuweisen, daß die gelegentlich geübte Methode, an der Menge der gebildeten Kohlensäure die Intensität der Atmung zu messen, unzulänglich ist, weil ja alle jene Atmungsvorgänge, welche unter unvollkommener Oxydation verlaufen, der Bestimmung nach dieser Methode entgehen. 45 Viel wichtiger ist schon die Ermittlung des Gesamtgasaustausches, des sog. **Atmungsquotienten** ($CO_2:O_2$), welcher angibt, wie viele Teile Kohlensäure auf einen Teil des aufgenommenen Sauerstoffes ausgehaucht worden sind. Die Untersuchung der Größe dieses Quotienten hat interessante Resultate geliefert, deren wichtigste wir nun zu betrachten 50 haben. DIAKONOW (1) fand für *Penicillium glaucum*, daß dieser Quotient mit der Art der zugeführten Nahrung sich ändert: Bei Zufuhr von d-Glucose war er etwas größer als 1, noch größer bei Darbietung organischer

Säuren, z. B. bei Ernährung mit Weinsäure fast 3; bei Darreichung von Aethylamin war er kleiner als 1. Gerber (1) stellte für *Aspergillus niger*, den er bei 33° C züchtete, fest, daß der Quotient bei Darreichung von organischen Säuren (Citronen-, Aepfel-, Weinsäure) ebenfalls größer als 1 ist. Neuere Untersuchungen rühren von Puriewitsch (4) her. In teilweiser Abänderung der Diakonow'schen Befunde, die er auf ungenügende Sauerstoffzufuhr (Eintreten von Spaltungsatmung) zurückführt, fand er, daß der Quotient, außer bei Darreichung von Weinsäure, immer kleiner als 1 ist; bei d-Glucose beträgt er 0,95, bei Weinsäure 1,62. Der bei physiologischer Verbrennung sich ergebende Quotient ist immer kleiner als der bei chemischer Verbrennung sich ergebende, d. h. es bleibt infolge unvollkommener Oxydation immer ein Teil des Sauerstoffes im Organismus zurück. Natürlich, so legt Puriewitsch weiter dar, ist der Quotient auch, abgesehen von der Beschaffenheit der Kohlenstoffquelle, von anderen Bedingungen abhängig, so z. B. von deren Konzentration. Bei Darbietung von Glucose und Saccharose steigt er bis zur Konzentration von etwa 10 Proz., um dann wieder zu fallen. Bei Zufuhr von Raffinose, Stärke, Tannin fällt er mit erhöhter Konzentration dauernd, und bei Glycerin und Mannit ist er fast unabhängig von dem Gehalte, fällt nur ganz unmerklich mit steigender Konzentration. Bei Weinsäure ist er trotz wechselnder Konzentration immer größer, bei Milchsäure immer kleiner als 1. Vergleicht man Kohlenhydrate untereinander, so zeigt sich, daß der Quotient mit steigender Molekulargröße sinkt: für d-Glucose betrug er 0,97, für Saccharose 0,92, für Raffinose 0,79; dieses Verhalten erklärt der genannte Forscher durch die Annahme, daß die für die Hydrolyse verbrauchte Sauerstoffmenge mit der Größe des Moleküles steigt. Im Hungerzustande, auf Wasser oder in erschöpften Nährlösungen, ist der Quotient immer kleiner als 1; es beruht dies nach Puriewitsch (4) wesentlich auf einem Sinken der Kohlensäureabgabe, die Sauerstoffaufnahme hingegen geht, wenigstens zunächst noch, ungehemmt von statten. Auch Kosinski (1) beobachtete in Hungerzuständen ein verhältnismäßiges stärkeres Sinken der Kohlensäureabgabe. Er glaubt, dies beruhe darauf, daß unter diesen Verhältnissen anstatt der Kohlenhydrate, welche sonst das gewöhnliche Material der Atmung abgeben, nun wesentlich Fette und organische Säuren oxydiert werden. Puriewitsch geht weiter und glaubt an eine durch die Not veranlaßte Zertrümmerung von Eiweißkörpern. Es wird wohl, zumal wenn man verschiedene Pilze in die Untersuchung einbezieht, beides vorkommen. Schittenhelm und Schröter (1) haben festgestellt, daß der Atmungsquotient des *Bac. coli communis* kleiner als 1 ist bei Zusatz von Nucleinsäure, Asparaginsäure, Milchsäure, hingegen größer als 1 (1,85) bei Zufuhr von Glycerin und anderen „vergärbaren" Stoffen. Einige weitere Angaben über die Atmung in Hungerzuständen verdanken wir Kosiński (1); es zeigte sich, daß *Aspergillus niger* und *Mucor*, wenn plötzlich die Nahrung entzogen wird, auch fast sofort die Atmung herabsetzen, was darauf schließen läßt, daß die gebotenen Nahrungsstoffe sehr schnell der Atmung verfallen. Größere Pilzhüte, etwa solche des Champignon, können freilich auf Kosten der in ihrem Inneren aufgestapelten Reservestoffe längere Zeit ungestört weiter atmen, ohne der Nahrungszufuhr von außen zu bedürfen. Bei den genannten Schimmelpilzen geht die Atmung wieder sehr schnell in die Höhe, sobald ihnen wieder Nahrung geboten wird. Mit dieser Erfahrung Kosinski's stimmt auch die Beobachtung von Kolkwitz (1) überein, daß

nach dem Ersetzen einer erschöpften Nährlösung durch frische die Atmung von *Penicillium glaucum* sehr schnell wieder steigt.

Mit dem Atmungsquotienten darf, um auf KOSIŃSKI's Arbeit noch weiter einzugehen, dasjenige nicht verwechselt werden, was dieser Forscher **Respirationswert** eines Stoffes nennt, d. h. das Verhältnis der 5 gebildeten Kohlensäuremenge zu dem Gewichte der atmenden Pilzdecke bei Darbietung des zu prüfenden Nährstoffes. Er fand, daß dieser Wert nicht dem Nährwert des Stoffes proportional ist und z. B. bei Darbietung von Weinsäure größer ist als bei Zufuhr von Glycerin, während im allgemeinen Glycerin die bessere Kohlenstoffquelle ist. 10

Auch über den **Einfluß** sog. **chemischer Reize** auf die Atmung (vgl. § 77) stellte KOSIŃSKI Untersuchungen an; er fand, daß zu dem Symptomenkomplex, der als die Folge chemischer Reizung durch geringe Giftmengen eintritt, auch die Erhöhung der Atmung gehört. So hatte bei *Aspergillus niger* ein Zusatz von nur 0,0005 Proz. Zinksulfat eine 15 Erhöhung der Atmung um annähernd 50 Proz. zur Folge; ähnlich wirkten Eisen und Mangan, bei deren Zusatz eine Steigerung um etwa 33 Proz. zu beobachten ist. Größere Zinkmengen brachten erst bei längerer Versuchsdauer eine Dämpfung der Atmung zustande. Zusätze von Cocain oder von salzsaurem Strychnin hatten nur eine geringe Verstärkung der 20 Atmung um ca. 15—20 Proz. zur Folge. Auch schwache Gaben von Aether (0,25—2 Proz.) steigern die Atmung; etwas größere drücken sie hinab, noch größere, etwa 5 Proz., hemmen sie vollständig.

Beobachtungen über den Einfluß plötzlichen **Turgorwechsels** auf die Atmung verdanken wir ebenfalls KOSIŃSKI (1). Es ergab sich, daß plötz- 25 licher Uebergang von geringerer zu stärkerer Konzentration die Atmung bei *Aspergillus niger* schwächt, und daß ein im umgekehrten Sinne verlaufender Uebergang sie steigert.

Es ist nun noch kurz der **Einfluß der Temperatur** und des Lichtes auf die Atmung zu streifen. Für gewisse Pilze — 30 meist werden die durch JUMELLE (1) untersuchten Flechten als Beispiel angeführt — ist bekannt, daß sie noch bei sehr niederer Temperatur atmen. Im allgemeinen wird die Atmung mit steigender Temperatur stärker und zwar jedenfalls bis nahe zum Tode. Einigung darüber, ob sie kurz vor dem Absterben wieder schwächer wird, ob 35 also ein Temperaturoptimum für die Atmung besteht, ist noch nicht erzielt. PFEFFER (4, Bd. I, S. 570) bestreitet solches, JOST (1) hält sein Vorhandensein für wahrscheinlich. Es liegt nun wohl kein Grund vor, daran zu zweifeln, daß die Atmung ein so komplexer Vorgang ist, daß die einzelnen Phasen in verschiedener Weise durch hohe Temperatur beeinflußt werden können; 40 ferner können spezifische Differenzen vorliegen, auch ist denkbar, daß derselbe Pilz sich je nach der Ernährung verschieden verhält, so daß die Frage nicht allgemein beantwortet werden kann. Für *Aspergillus niger* zeigte KUNSTMANN (1) jedenfalls so viel, daß bei kürzerer Versuchsdauer ein Optimum besteht; die Menge der innerhalb dreier Tage aus- 45 gehauchten Kohlensäure betrug z. B. bei 25° 0,89 g, bei 30° 1,38 g, bei 35° ebensoviel, bei 40° 1,18 g, bei 41° 0,68 g, so daß, daran gemessen, jedenfalls ein Optimum bei ca. 33° festzustellen war. Bei längerer Versuchsdauer ergab sich allerdings, daß schließlich die Menge der bei 40° gebildeten Kohlensäure diejenige der bei 35° gebildeten bedeutend über- 50 trifft, d. h. bei 40° steigt die Atmungskurve zwar langsamer, aber schließlich zu größerer Höhe als bei 35° an.

Auch für die Abhängigkeit der Atmung vom **Lichte** gilt dasselbe,

daß eine allgemeingültige Beantwortung heute nicht möglich ist, nicht etwa wegen mangelhafter Versuchstechnik, denn diese ist z. B. bei Kolkwitz (1) fast bis zur äußersten Vollendung getrieben, sondern, wie mir scheint, darum, weil die Fragestellung eine zu allgemein gehaltene 5 ist. Wir begnügen uns damit, die wichtigste Literatur darüber kurz anzugeben. Wilson (1) bemerkte keine Beeinflussung der Atmung durch das Licht. Bonnier und Mangin (1) fanden, daß rotes und gelbes Licht verlangsamend wirkt. Elfving (1) beobachtete, daß jugendliche Zuchten von *Aspergillus* durch das Licht in der Atmung beeinträchtigt werden, 10 ältere jedoch nicht; dasselbe gilt für *Mucor racemosus*. Bonnier und Mangin wurden in ihren wesentlichen Resultaten durch Puriewitsch (1) bestätigt, Detmer (1) wiederum konnte keinen Einfluß auf die Atmung junger Fruchtkörper von *Agaricus* nachweisen. Kolkwitz (1) steht insofern allein, als er eine etwa 10 Proz. betragende Erhöhung der At- 15 mung durch das Licht beobachtet hatte. Maximow (1) schließlich hält einen weitgehenden Einfluß der Art der Ernährung und des Alters des Versuchsobjektes für erwiesen. Junge Pilzzuchten wurden durch Licht in ihrer Atmung nicht beeinflußt, ältere steigern bei Belichtung die Atmung, um so mehr je mangelhafter sie ernährt sind. Dies gilt für den 20 *Aspergillus niger*. Der *Rhizopus nigricans* steigert infolge der Belichtung seine Atmung zunächst (in der ersten halben Stunde) ebenfalls, wird aber später durch sie stark geschädigt. Beim *Aspergillus* ließ sich eine allmähliche Anpassung an Belichtungswechsel feststellen, so zwar, daß der Pilz in der Stärke seiner Atmung schließlich von jener unabhängiger 25 wurde.

Mit einem ganz kurzen Ausblick auf den **Einfluß** des **Entwicklungsstadiums** des Organismus auf die Stärke der Atmung sei die Besprechung der Sauerstoffatmung geschlossen. An sich ist klar, daß es nicht gleichgültig sein wird, ob wir die Atmung noch wachsender oder 30 schon ausgewachsener Zellen vergleichen; in praxi wird sich allerdings vielfach die Schwierigkeit oder gar Unmöglichkeit ergeben, die beiden auseinanderzuhalten, z. B. dann, wenn wir die Atmung einer noch im Wachstum begriffenen Pilzdecke untersuchen. Im übrigen sei auf folgende Angaben von Puriewitsch (1) aufmerksam gemacht. Dieser 35 beobachtete, daß bei Hutpilzen die Atmung während der Streckung des Stieles sehr schnell ansteigt, vorher und nachher aber konstant ist. In alternden Hüten sinkt sie wieder. Ferner fand derselbe Forscher (4), daß die Atmung (sowohl aufgenommener Sauerstoff als auch ausgehauchte Kohlensäure) bei Decken von *Aspergillus niger* bis zur Bildung der 40 Konidien der Mycelentwicklung proportional ansteigt, dann aber schnell fällt, ohne daß bei gleichbleibender Ernährung der Atmungsquotient sich änderte.

§ 74. Die Spaltungsatmung. Die Ernährung der Anaeroben.

45 Zunächst wollen wir die Spaltungsatmung der aeroben Schimmelpilze besprechen, welche zur alkoholischen Gärung der Hefe überführt. Darauf behandeln wir die fakultativ anaeroben Bakterien und betrachten schließlich die obligaten Anaeroben.

Wie oben angedeutet worden ist, werden bei der Sauerstoffatmung durch die Lebenstätigkeit auf die eine oder andere, hier nicht weiter 50 zu erörternde Weise dauernd Affinitäten zum freien Sauerstoff geschaffen,

welche dieses Gas in den Stoffwechsel reißen. Auch nach Entzug des Sauerstoffes treten solche Affinitäten noch weiterhin auf, können aber jetzt nicht mehr auf normale Weise gebunden werden, und bewirken nun anderweitige Umlagerungen und Zersetzungen, die als Spaltungsatmung bezeichnet werden und Betriebskraft liefern, welche es ermöglicht, den Sauerstoffmangel während einer je nach Spezies und Ernährung verschieden langen Zeit zu ertragen. Während PASTEUR (1) zuerst die Spaltungsatmung als energieliefernden Prozeß erkannte, stammt die Anschauung der genetischen Verknüpfung von Sauerstoffatmung und Spaltungsatmung von PFEFFER (1).

An der Menge der bei der Spaltungsatmung auftretenden Kohlensäure wird meist deren Stärke gemessen; WILSON (1) befand sie meist kleiner als die unter gleichen Bedingungen, aber bei normaler Atmung entstandene. Nähere Angaben über die Beziehungen der **Art der Ernährung zur** Spaltungsatmung verdanken wir DIAKONOW (1) und PFEFFER (4). Es ergab sich, daß *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*, wenn sie auf einer Chinasäure, Pepton und Nährsalze, d. h. bei Luftzutritt optimale Nährstoffe führenden Lösung gezüchtet werden und ihnen der Sauerstoff entzogen wird, entweder sofort *(Penicillium)* oder doch sehr schnell die Kohlensäureabgabe einstellen und ersticken. Es ändert sich das jedoch, wenn statt Chinasäure Zucker geboten wird: dann hält auch nach Sauerstoffentzug die Abgabe von Kohlensäure längere Zeit an, und die Pilze können auch bei Luftabschluß ihr Leben eine Zeitlang fristen. Insbesondere der *Rhizopus*, am wenigsten hingegen *Penicillium*, bilden in sauerstofflosem Raume nicht unbeträchtliche Mengen von Kohlensäure infolge von Spaltungsatmung, wenn auch bedeutend weniger als bei Zutritt von Sauerstoff. Der Zucker war in diesen Versuchen durch keine anderen Kohlenstoffquellen zu ersetzen. Etwas andere Ergebnisse hatte KOSTYTSCHEW (1). Er beobachtete zunächst auch auf Wasser, d. h. bei Abwesenheit von Nährstoffen, eine (wenn auch stark herabgesetzte) Kohlensäureabgabe im sauerstoffreien Raume bei *Aspergillus niger* und *Rhizopus nigricans*. Das Mycel des letzteren zeigte sich nach solchen Versuchen auf Wasser gänzlich erschöpft, während es nach Versuchen auf Zuckerlösung derb und fest blieb. Ebenso wie auf Wasser war die Kohlensäureausgabe im luftfreien Raum auch bei Darbietung von Chinasäure, Weinsäure oder Glycerin nur sehr gering, was sich mit den Angaben von DIAKONOW deckt; im Gegensatz zu dem Befund dieses Forschers steht jedoch das Ergebnis, daß auch durch Ernährung mit Pepton und weinsaurem Ammon die Spaltungsatmung auf der gleichen Höhe wie bei Zuckerzufuhr gehalten wurde. Man wird versucht sein, diese Angaben mit denen DIAKONOW's in Einklang zu setzen. So wäre denkbar, daß aus dem Pepton Kohlenhydrate abgespalten wurden und der weiteren Spaltungsatmung verfielen. In ähnlicher Weise könnte weinsaures Ammon in Zucker und oxalsaures Ammon gespalten worden sein. Das Ammon hätte dann die Aufgabe der Neutralisierung der Oxalsäure, was insofern mit DIAKONOW stimmt, als dieser Forscher eine starke Hemmung der Spaltungsatmung durch Säuren feststellte. Immerhin sind das nur Möglichkeiten, und es wäre auch denkbar, daß die Verschiedenartigkeit der Versuchsanstellung mitgewirkt hat; KOSTYTSCHEW arbeitete mit Raulin'scher Nährlösung, während ich über das Nährsalzgemisch, welches DIAKONOW verwendete, nichts angegeben finde. Wie dem auch sei, jedenfalls weist KOSTYTSCHEW darauf hin, daß durch seine Untersuchungen die Hypothese PFEFFER's

von der Verknüpfung der Sauerstoffatmung mit der Spaltungsatmung nur an Wahrscheinlichkeit gewinnt, da ja auch die Sauerstoffatmung auf Kosten verschiedener Nährstoffe möglich ist. Weitere Untersuchungen über diese Frage sind erwünscht.

5 Von nicht gasförmigen Produkten treten bei den eben behandelten Organismen auch solche auf, die wir schon von der Besprechung der Sauerstoffatmung her kennen, so z. B. die Oxalsäure. Kostytschew fand, daß *Aspergillus* bei Spaltungsatmung reichlich Oxalsäure bildet. Die Menge derselben war dann besonders groß, wenn Zink in der Nähr-10 lösung als Reizstoff vorhanden war. Auch *Rhizopus nigricans*, der nach Kostytschew bei Sauerstoffzutritt keine Oxalsäure bilden soll, brachte solche bei Luftabschluß reichlich hervor, wenn er mit weinsaurem Ammon, jedoch nicht, wenn er mit Zucker gefüttert wurde; wahrscheinlich hat hier das Ammon speichernd auf die Oxalsäure gewirkt.

15 Als klassisches Produkt der Spaltungsatmung dürfen wir aber, wie bekannt, den Alkohol betrachten, wenngleich er auch von den genannten Pilzen immer nur in sehr geringer Menge hervorgebracht wird. Die Angabe von Elfving, daß *Penicillium* auch größere Mengen von Alkohol (bis zu 4,2 Vol. Proz.) soll bilden können, beruht nach Schiönning (cit. 20 nach Lafar [4, Bd. II, S. 432]) auf einem Irrtum. Nach den Angaben Kostytschew's soll *Rhizopus nigricans* auf Zucker weitaus höhere Ausbeuten an Alkohol als auf weinsaurem Ammon liefern. Zu einer weit länger andauernden Spaltungsatmung sind nun verschiedene andere Mucorarten befähigt. Wir finden Bail (1) als jenen Forscher angegeben, 25 welcher diese Fähigkeit zuerst bemerkt hat, und es ist bekannt, daß später Pasteur (4), als er seine Gärungstheorie aufbaute, von dieser Tatsache den Ausgang nahm. An die Vorstellung, welche der letztere Forscher sich von diesem Vorgange machte, erinnert uns die Bezeichnung **intramolekulare Atmung**, welche Pflüger im Jahre 1875 ge-30 schaffen hat, und die besagen will, daß auch bei dieser Art der Zuckerzersetzung eine Sauerstoffatmung vorliegen soll, so zwar, daß der Sauerstoff innerhalb des Zuckermoleküles wandert, den Ort seiner Bindung wechselt und jenes in einen sauerstoffreicheren Teil, nämlich die Kohlensäure, und einen sauerstoffärmeren, den Alkohol, zerlegt. Genauere An-35 gaben über die Mucorgärungen sind im 22. Kapitel des IV. Bandes zu finden. Kurz sei nur noch angefügt, daß nach Werner (1) auch *Nectria cinnabarina* in Zuckerlösung bei Sauerstoffabschluß gären (d. h. Alkohol bilden) kann, falls sie bei Luftzutritt angezüchtet worden ist.

Ungezwungen führen uns die eben erwähnten Pilzgärungen zu der 40 alkoholischen Gärung der Hefezellen über, die allerdings auch einige Unterschiede bieten. Gemeinsam ist der Zuckerzersetzung durch Mucor wie durch Hefen, daß es energieliefernde Prozesse sind, die, falls der Sauerstoff fehlt, den Betrieb ermöglichen; gemeinsam ist darum auch beiden Organismengruppen, daß sie bei Luftmangel Zucker zur Lebens-45 tätigkeit benötigen.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen der Spaltungsatmung der Schimmelpilze und jener der Hefen besteht darin, daß dieser Vorgang bei ersteren nur als Notbehelf, bei mangelnder Sauerstoffatmung sich einstellt, während er bei den Hefen, wie Nägeli (3) fand, auch bei reich-50 lichem Zutritt dieses Gases anhält, ja sogar dadurch gefördert wird, vorausgesetzt natürlich, daß die für sein Eintreten unerläßliche Bedingung, das ist Anwesenheit genügender Mengen von Zucker, erfüllt ist. Es ergibt sich somit, daß wohl für die Mucorarten, nicht aber für

die Hefen der Pasteur'sche Satz: „Gärung ist Leben ohne Sauerstoff", zutrifft. Die Frage erhebt sich nun, wie ist die alkoholische Gärung bei Sauerstoffzutritt zu deuten, und damit verbindet sich die weitere Frage, wie denn andere, ebenfalls sowohl bei Zutritt als auch bei Abschluß von Sauerstoff verlaufende Gärungen bei Bakterien, z. B. die des Milchzuckers, zu erklären sind. Da ist zunächst zu betonen, daß gar nicht einzusehen ist, warum nicht auch bei Sauerstoffzutritt energieliefernde Spaltungsprozesse unterhalten werden sollen. Jedenfalls spricht die Unabhängigkeit der Hefengärung von Sauerstoffabwesenheit schlechterdings nicht gegen deren Deutung als Kraftquelle. Immerhin hat doch die gewaltige Stoffzertrümmerung bei der „Gärung" etwas Eigenartiges, und es ist nicht zu verwundern, daß man nach anderen Deutungen sucht, die zwar die oben gegebene, energetische nicht ausschalten, wohl aber sie zu ergänzen geeignet sind. Iwanowski (1) erklärt sie ohne weiteres für einen pathologischen, durch ein Mißverhältnis zwischen der vorhandenen Menge von Kohlenhydrat und der Stickstoffzufuhr ausgelösten Vorgang. Wir müssen mit Godlewski (1) und anderen Forschern diese Deutung zurückweisen, da ja tatsächlich die Hefe bei der Gärung sehr gut gedeiht und auch am natürlichen Standorte, auf geplatzten süßen Früchten etc., gärend vorkommt. Befriedigender ist eine andere, der Iwanowski'schen ziemlich genau entgegengesetzte, auf Nägeli zurückzuführende und neuerdings besonders durch Wortmann (2) ausgearbeitete ökologische Gärungstheorie, die im Alkohol ein Kampfmittel der Hefe sieht; sie soll im nächsten Paragraphen eingehender besprochen werden. Diese wenigen Andeutungen über die Spaltungsatmung der Hefe müssen hier genügen; die Fragen betreffend den Einfluß des Sauerstoffes auf Zellvermehrung und auf Gärungsenergie der Hefe werden im 5. und im 18. Kapitel des IV. Bandes behandelt werden.

Auch bei den **fakultativ anaeroben Bakterien**, denen wir uns nunmehr zuwenden, zeigt sich, daß das anaerobe Leben innerhalb engerer Grenzen festgebannt ist als das aerobe, insbesondere was die Ansprüche an die Ernährung betrifft. Um bloß zwei Beispiele zu nennen, gedeiht bei Mangel von freiem Sauerstoff das *Bact. vernicosum* zufolge Zopf (2) nur dann, wenn ihm Zucker geboten wird, und der *Bac. prodigiosus* zufolge G. Ritter (1) nur dann, wenn bestimmte Kohlenhydrate (Traubenzucker, Rohrzucker, Maltose), die er bei aerobem Wachstum nicht unbedingt braucht, zugegen sind. Samkow hat freilich einen Stamm von *Bac. prodigiosus* unter Händen gehabt, welcher überhaupt nicht ohne Sauerstoff gedeiht. Was zunächst die Beziehungen der fakultativ anaeroben Spaltpilze zum Sauerstoffdrucke angeht, so dürften viele von ihnen gegen erhöhten Sauerstoffdruck empfindlicher sein als die obligat aeroben; so fand Chudjakow (1), daß sein fakultativ anaerobes *Clostridium viscosum* schon bei 2 at Druck nicht mehr gedeiht und bei 4 at bereits abgetötet wird, während z. B. *Bac. subtilis* noch bei 3 at wuchs, bei 4 at zwar nicht mehr, jedoch auch nicht abgetötet wurde. Wenn Chudjakow sein *Clostridium* auf Nährböden züchtete, die zu anaerobem Leben nicht taugten, so zeigte sich bei Minderung des Luftdruckes, daß es bei 5 mm eben noch kümmerlich gedieh. Ein tieferes Eindringen in das Wesen der fakultativen Anaerobiose hat nun die Frage zu stellen, welche Seiten der Lebenstätigkeit mehr, und welche weniger durch den Sauerstoffentzug in Mitleidenschaft gezogen werden; denn die Meinung, daß sie alle in gleicher Weise beeinflußt würden, ist unzutreffend. Besonders bemerkenswert sind hier Erfahrungen über die

Eigenbewegung fakultativ anaerober Spaltpilze, die wir H. RITTER (1) verdanken: ein von der Oberfläche von Gerstenkörnern abgeschiedener, fakultativ anaerober Bazillus stellte im sauerstoffreien Raume schon nach 3 bis 5 Minuten seine Bewegung ein, das gleichfalls fakultativ 5 anaerobe *Spirillum* FINKLER-PRIOR erst nach etwa 5 bis 80 Minuten, noch andere sogar erst nach 20 Stunden. Zuckerzusatz zu der Beobachtungsflüssigkeit (Wasser) verlängerte die Zeit, während deren sich diese Wesen ohne Sauerstoffzutritt bewegen konnten. Es handelt sich dabei um eine „Reizwirkung" des Zuckers; denn es ist klar, daß bei 10 der kurzen Versuchsdauer ein Hungerzustand nicht eintreten konnte. Diese Beobachtungen erinnern an die von A. FISCHER (1) behandelte Erscheinung, daß als eines der ersten Symptome des Sauerstoffentzuges bei aeroben Bakterien mit Eigenbewegung die Geißelstarre eintritt. Auch die Farbstoffbildung wird bei fakultativ anaeroben Bakterien 15 durch Sauerstoffentzug gehemmt. In jedem einzelnen Falle wird hierbei zu entscheiden sein, ob tatsächlich die Bildung des Farbstoffes überhaupt unterbleibt, oder ob bloß ein Leukofarbstoff entsteht, welcher sich erst bei Luftzutritt oxydiert und dadurch farbig wird. Das Wissenswerteste über diese Frage findet man bei A. FISCHER (2) zusammen- 20 gestellt. Umgekehrt soll *Spirillum rubrum* nur bei Sauerstoffmangel farbig auftreten, was aber nach Angabe des eben genannten Forschers sich nicht ausnahmslos bestätigt hat. Es wird sich empfehlen, in diesem Zusammenhange auch auf die Beobachtungen EWART's, über welche PFEFFER (3) berichtet, hinzuweisen, denen zufolge manche aerobe Farbstoffbakterien 25 (*Bact. brunneum, B. cinnabareum, Micrococcus agilis, Staphylococcus citreus, Bac. janthinus*) die Fähigkeit haben, vermittels ihres Farbstoffes den freien Sauerstoff zu binden und ihn dann bei eintretendem Sauerstoffmangel zur Atmung zu verwerten. Es handelt sich also um temporäre Anaerobiose. Eigenartigerweise geben diese Wesen dabei den Sauer- 30 stoff im luftleeren Raume auch nach außen an andere aerobe Bakterien ab und ermöglichen ihnen so durch ihre Gegenwart, für einige Zeit im luftleeren Raume zu bestehen. Es ist der Farbstoff selbst, welcher den Sauerstoff bindet, vielleicht auf ähnliche Weise wie das Hämoglobin; denn den farblosen Bakterienstämmen geht diese Fähigkeit ab, und der Farb- 35 stoff kann auch nach geeigneter Abtötung der Bakterien noch sauerstoffbindend wirken. Vgl. auch die Angaben auf S. 289.

Wir können die Besprechung der fakultativen Anaerobiose der Bakterien nicht schließen, ohne mit wenigen Worten der Denitrifikation und Desulfuration zu gedenken, jedoch muß wegen aller 40 Einzelheiten auf die Darstellung dieser Vorgänge im 6. bzw. 8. Kapitel des III. Bandes verwiesen werden. Als „echte Denitrifikation" bezeichnet man, wie dort betont werden wird, jene durch Bakterien bewirkte Reduktion von Nitraten und Nitriten, welche bis zur Abspaltung von freiem Stickstoff führt. Wie wir der Arbeit von MAASSEN (1) entnehmen, 45 sprachen zuerst GAYON und PETIT diesen Vorgang als einen solchen an, durch welchen dessen Erreger bei Mangel an freiem Sauerstoff sich dieses Element aus den Nitraten und Nitriten verschafften; er sollte also eine Art von „intermolekularer Atmung" sein. Für diese Deutungsweise spricht die Angabe JENSEN's (s. 6. Kap. d. III. Bd.), daß bestimmte 50 stickstoffentbindende Bakterien nur bei Anwesenheit von Nitraten oder Nitriten ohne freien Sauerstoff leben können, ferner die Beobachtung, daß Nitrate oder Nitrite wohl vielen, aber doch nicht allen denitrifizierenden Bakterien als Stickstoffquelle dienen können. So verlangt nach

Maassen der *Bac. praepollens*, nach Baur (1) das aus der Ostsee stammende *Bact. actinopelte* entweder Aminosäuren oder Albumosen. Für diese Deutungsweise spricht weiter die Angabe vieler Forscher, daß der Entzug von freiem Sauerstoff die Denitrifikation fördere. Dabei darf allerdings nicht übersehen werden, daß anderen Forschern zufolge die Hemmung der Denitrifikation durch Sauerstoffzutritt nicht allgemein gilt, z. B. zufolge Maassen wohl für *Bac. praepollens*, aber nicht für *Bac. fluorescens* und *Bac. pyocyaneus*, welche A. Fischer (2) als Prototype denitrifizierender Formen betrachtet, nach Baur auch nicht für die von ihm aus der Ostsee erhaltenen Arten. Es ist mir nicht bekannt, ob Versuche vorliegen, denitrifizierende Mikroben bei Sauerstoffzutritt anzuzüchten und dann die Einwirkung des Sauerstoffentzuges auf die Stickstoffabspaltung zu untersuchen, was wünschenswert wäre im Hinblick auf die Erfahrungen über die Anaerobiose des *Mucor*, der auch bei Luftzutritt angezüchtet werden muß, um dann bei Luftabschluß gären zu können. Auch die Frage, ob denitrifizierende Mikroben durch lange Zeit oder nur vorübergehend ohne Sauerstoff auf Kosten von Salpetersäure und salpetriger Säure leben können, dürfte noch eingehender zu behandeln sein. Auch die sog. unechte Denitrifikation, die Reduktion von Nitraten bloß bis zu Nitriten, also ohne Stickstoffabspaltung, die im Reiche der Bakterien außerordentlich verbreitet ist, dient möglicherweise der Beschaffung von Sauerstoff. Wie sehr auch in dieser Frage vieles schwankend ist, zeigt die Tatsache, daß Jensen (s. 6. Kap. d. III. Bds.) dem *Bac. subtilis* die Fähigkeit zur Nitratreduktion abspricht, während A. Meyer (2, S. 138) sie als diagnostisches Merkmal für denselben Bazillus verwertet. In ganz ähnlicher Weise, wie nach den oben genannten Forschern die Denitrifikation, soll nach van Delden (1) die Desulfuration, d. h. die Reduktion von Sulfaten, die durch *Microspira desulfuricans* im süßen Wasser, durch *M. aestuarii* im Meere bewirkt wird, zu deuten sein. Man vergleiche darüber die Angaben im 8. Kapitel des III. Bandes und die Mitteilung von Iterson (2). —

Um das von den Dissimilationsvorgängen entworfene Bild einigermaßen abzurunden, sollen noch einige Bemerkungen allgemeiner Natur über die **Ernährungsverhältnisse** der obligat anaeroben Pilze angefügt werden. Soweit bekannt, haben wir diese nur unter den Bakterien zu suchen. Was zunächst die Beziehung der Anaerobier zum Sauerstoffdruck angeht, so wird es nach den an den Aerobiern gemachten Erfahrungen nicht Wunder nehmen, wenn auch bei Anaerobiern sich spezifisch verschiedene Ansprüche geltend machen. Beispiele dafür gibt schon Liborius (1). Von neueren Forschern sei zunächst Chudjakow (1) genannt, dem zufolge das *Bactridium butyricum* noch bei einem Sauerstoffgehalt von 0,13 Proz. gedieh, während andere Anaeroben die doppelte Menge vertrugen; alle Anaeroben verbrauchten dabei den ihnen gebotenen Sauerstoff. In den durch Matzuschita (2) angestellten Versuchen hingegen gediehen die auf festen Nährböden gezüchteten Anaerobier *Clostridium butyricum*, *Bac. oedematis maligni*, *Bac. anthracis symptomatici*, *Bac. sporogenes* und *Bac. botulinus* nur dann, wenn der Sauerstoffgehalt der sie umgebenden Atmosphäre höchstens 0,0310 Proz. betrug. Solche Verschiedenheiten können übrigens nicht wundernehmen, wenn Chudjakow mit seiner Angabe im Recht ist, daß es gelingt, streng anaerobe Wesen durch allmähliche Angewöhnung an höheren Gehalt an Sauerstoff anzupassen (s. das 23. Kapitel). Später gelang es Ferrán (1), den *Bac. tetani* allmählich an Luft zu

gewöhnen; dieser büßte dabei jedoch seine Virulenz ein. Die Ansprüche der anaeroben Bakterien an die Ernährung sind verschiedenartig. Viele anaerobe Buttersäurebakterien gedeihen, wenn ihnen Traubenzucker, Invertzucker, Mannit oder Glycerin geboten wird; anderen wieder müssen Milchsäure oder andere organische Säuren geboten werden. Sehr viele sind recht wählerisch, so z. B. der *Bac. oedematis maligni* und der Erreger des Rauschbrandes zufolge Smith (1), Chudjakow (1) und G. Ritter (1). Letzterer gibt, gestützt auf Beijerinck (6), an, daß die „ganze Gruppe der eiweißzersetzenden Anaeroben" keinen Zucker brauche. Chudjakow fand weiter, daß *Clostridium* und *Bactridium butyricum* bei Pepton- oder Ammonzufuhr als Stickstoffquelle wohl die daraufhin geprüften Kohlenhydrate, nicht aber auch Mannit vergoren. Weitere Angaben darüber sind im § 88 zu finden. Unter den Endprodukten des Stoffwechsels der Anaerobier kann die Kohlensäure fehlen, und es brauchen nicht immer, wie wohl früher angenommen wurde, lebhafte Gasbildung und anaerobes Leben miteinander verknüpft zu sein. G. Ritter (1) bezeichnet als obligat anaerobe Spaltpilze, die ohne Gasentbindung leben können, den *Bac. polypiformis* und den *Bac. muscoides*. Von fakultativ anaeroben wären zu nennen der *Bac. prodigiosus*, der *Bac. typhosus* und das *Bact. lactis acidi*.

Versuche, durch Variation der Ernährung, abgesehen von allmählich gesteigertem Sauerstoffzutritt (vgl. oben), Anaerobier zur Aerobiose zu zwingen, fehlen nicht. Chudjakow machte deren viele, allerdings vergeblich. Nach Kitt (1) gelingt es jedoch den Rauschbranderreger an Luft zu gewöhnen. Ueber umgekehrte, ebenso vergebliche Versuche, durch geeignete Ernährung aerobe Bakterien zur Anaerobiose zu zwingen, findet man bei Matzuschita (2) einige Angaben. Eine eingehendere Behandlung dieser Fragen findet der Leser im 20. Kapitel dieses Bandes. Dort, wie auch im 23. Kapitel, findet sich auch eine Besprechung der Mischzuchten von aeroben mit anaeroben Spaltpilzen, desgleichen bei Winogradsky (3, 4).

Wir müssen schließlich noch die oben schon gestreifte Hypothese Beijerinck's (6) von der **Mikroaerophilie** kennen lernen. Dieser Forscher hatte beobachtet, daß *Bac. butyricus* nur auf Würze, nicht aber auch auf anderen Nährböden (Albumose plus Zucker) ganz ohne freien Sauerstoff gedeihen kann. Er schließt daraus, daß die Würze in irgendwelcher Weise locker gebundenen Sauerstoff enthalte, die sie dem genannten Spaltpilze zur Verfügung stellte; dieser sei also nicht streng anaerob, sondern mikroaerophil, d. h. er begnüge sich mit geringen Mengen des Gases, die er sich allenfalls aus lockerer Bindung verschaffen könne. Mikroaerophil seien nun z. B. auch jene Arten mit Eigenbewegung, die in Zuchten unter dem Deckglas nicht die Orte geringster, sondern nur einer gewissen, sehr geringen Sauerstoffspannung aufsuchen (wie Granulobakterarten, ferner Fäulnisbakterien), sodann aber auch solche Arten ohne Eigenbewegung, die nicht tunlichst weit sondern nur in einer gewissen geringen Entfernung von der Oberfläche der Gelatine oder des Agar wachsen. Und Beijerinck hält es für möglich, daß alle sog. anaeroben Bakterien tatsächlich mikroaerophil seien. Wir glauben, ihm darin nicht folgen zu sollen, denn das Dasein von wirklich anaeroben Bakterien scheint uns zweifellos erwiesen; unter anderen sind hierfür Gewährsmänner Winogradsky (3, 4), der sein *Clostridium Pasteurianum*, und Omelianski (1), der die Cellulosevergärer in Nährlösungen, in denen von locker gebundenem Sauerstoff nicht die Rede sein kann, in wiederholten

Zuchten (Passagen) zu entwickeln vermochten. Wir glauben also den Ausdruck „Mikroaerophilie“ nur dahin verstehen zu sollen, daß die obligat Anaeroben einen zwar sehr geringen, aber verschieden hohen Druck des Sauerstoffes ertragen können, einen Druck, dessen Höhe von der Spezies, den Lebensbedingungen und allenfalls, zufolge CHUDJAKOW, auch vom Vorleben abhängt. Zugehörige Bemerkungen findet man noch im 23. Kapitel.

Vielleicht darf zum Schluß darauf hingewiesen werden, daß bei dem höchst schwankenden Begriffe: „locker gebundener Sauerstoff“ die ganze Frage in Gefahr läuft, in einen Wortstreit auszuarten.

§ 75. Gärungserscheinungen.

Da in der Einleitung dieses Buches die geschichtliche Entwicklung des Begriffes „Gärung“ in erschöpfender Weise behandelt ist, beschränken wir uns unter ausdrücklicher Verweisung auf die genannten Ausführungen (insbesondere im § 7) hier darauf, die Frage zu streifen, welche Stelle innerhalb der Dissimilationsvorgänge den Gärungsprozessen gehört, und neuere Anschauungen über die biologisch-ökologische Bedeutung der Gärprodukte zu besprechen.

Kein wichtiger Begriff der Mykologie ist annähernd so vieldeutig wie der der Gärung, und es gibt kaum einen einigermaßen auffallenden, durch Pilztätigkeit bewirkten Vorgang, der nicht schon als Gärung bezeichnet worden wäre. Allen gemeinsam dürfte bloß das eine Merkmal sein, daß Gärungen sehr lebhaft verlaufende Stoffumwandlungen sind, so zwar daß die Menge der verarbeiteten Stoffe die Masse des Erregers selbst oft sehr beträchtlich übertrifft. Auch werden als Gärungen mit Vorliebe solche Prozesse bezeichnet, bei denen keine vollständigen Oxydationen sich ergeben, vielmehr die Produkte oder doch einige von ihnen entweder von auffallender Beschaffenheit oder wertvoll im Haushalte des Menschen sind. Doch gilt dies letztere schon nicht mehr allgemein; denn mit vollem Rechte spricht z. B. OMELIANSKI (1) von der Wasserstoffgärung der Cellulose, um sie von der Methangärung dieses Kohlenhydrates zu unterscheiden.

Viele Forscher bezeichnen, und dies ist wohl die wissenschaftlichste Definition, als Gärung energieliefernde Prozesse, worunter die einen auch Verbrennungen, wie etwa die Essigsäuregärung, mit einbeziehen, während andere den Begriff nur auf Spaltungen anwenden; dabei wird meist besonderer Wert auf deutlich sichtbare Gasentwicklung und Schäumen der Zucht gelegt. Aber auch der Definition der Gärung als eines energieliefernden Prozesses ist entgegengehalten worden, daß eine derartige Bedeutung nicht allgemein erwiesen sei; außerdem rechnen auch manche Forscher solche Prozesse, die, wie die Nitratreduktion, unter Arbeitsaufwand verlaufen, zu den Gärungen, und zwar darum, weil es heftige Stoffzertrümmerungen sind, die auch unter lebhafter Gasbildung verlaufen können.

Angesichts solcher Sachlage empfiehlt es sich, auf eine strenge Definition überhaupt zu verzichten und eine weitgehende Freiheit im Gebrauche dieses Begriffes walten zu lassen. In wissenschaftlicher Hinsicht wäre nur daran festzuhalten, daß die eigentlichen, d. h. die unter Arbeitsleistung verlaufenden Gärungen, Betriebsenergie liefern können, so allen voran die alkoholische Gärung des Zuckers, wenn Sauerstoff

mangelt. Diese von PASTEUR (4) stammende Theorie der Gärung als eines energieliefernden Prozesses wird nun in vortrefflicher Weise durch die sog. **ökologische Gärungstheorie** ergänzt. Diese knüpft an die Tatsache an, daß, wie NÄGELI (1) ausführte, „die Gärtätigkeit eines 5 Pilzes sein eigenes Wachstum sehr befördert, dagegen die Ernährung und die Vermehrung der übrigen Pilze sehr benachteiligt“, eine Tatsache, die in PFEFFER's (4) Handbuch eingehend gewürdigt ist und neuerdings durch WORTMANN (2) nachdrücklich zur Erklärung der Gärung herangezogen wurde, während früher die andere Tatsache, daß bei übermäßiger Entwicklung die Organismen auch an ihren eigenen Produkten 10 zugrunde gehen können, etwas einseitig berücksichtigt wurde. Genauere Ausführungen über diese Fragen findet man im 20. Kapitel dieses Bandes.

Betrachten wir nun mit WORTMANN (2) die bei der Gärung gebildeten Stoffe als **Kampfstoffe**, und werfen wir zuerst einen Blick auf die Weingärung, so ergibt sich, daß im Moste, sobald zu Beginn der Gärung der 15 Alkoholgehalt 4 Vol.-Proz. übersteigt, die Apiculatushefe und dann auch die Mucorarten, d. h. diejenigen Feinde der Weinhefen, die nächst ihnen am meisten Alkohol vertragen, ihr Wachstum einstellen, nachdem andere Konkurrenten, wie Schimmelpilze, Dematiumarten und Kahmhefen, schon früher zugrunde gegangen oder in Dauerformen übergegangen sind, so 20 daß nunmehr die echten Hefen das Feld beherrschen.

Es ist klar, daß sich die Theorie nicht auf die Betrachtung der Hauptprodukte der Gärung zu beschränken braucht. So wird von ROTHENBACH (1) u. a. darauf hingewiesen, daß die bei der Gärung gebildeten Säuren geeignet sind, Bakterien zu unterdrücken. Man ver- 25 gleiche auch die Angaben, welche WEHMER (4) über den Kampf zwischen Sproß- und Schimmelpilzen macht.

Auch auf die Essigsäuregärung läßt sich die ökologische Theorie leicht anwenden. Denn der Essig ist seinen Erzeugern ein wertvolles Kampfmittel, welches sie z. B. im Moste unter Umständen befähigen 30 kann, die Hefen zu unterdrücken, welche gegen Essigsäure (und andere von den Essigbakterien erzeugte Stoffe) sehr empfindlich sind.

Wie auf die Zucker- und die Alkoholvergärung läßt sich die ökologische Theorie auch auf andere, z. B. zufolge A. FISCHER auf die Buttersäuregärung, anwenden, da auch deren Erreger gegen ihr Produkt, 35 also hier die Buttersäure, widerstandsfähiger sind als andere Pilze. Nach PFEFFER (4, Bd. I, S. 563) ist es allerdings fraglich, ob die Buttersäure- und die Milchsäuregärung als Stützen dieser Theorie herangezogen werden können. Ohne weiteres ist klar, daß sie nicht für alle Gärungen zutrifft, so z. B. nicht für die der Cellulose; hier handelt es sich offenbar 40 um Prozesse, die nur dazu dienen, Betriebsenergie und Nahrungsstoffe zu beschaffen, falls nicht etwa die Gasentwicklung geeignet ist, Aerobier aus dem Felde zu schlagen.

Gegen die Gültigkeit der ökologischen Theorie ist mit Recht durch JOST (1) das Bedenken erhoben worden, daß die Gärungserreger doch viel- 45 fach auch selbst, wie oben schon betont, von ihren eigenen Kampfmitteln geschädigt werden, sich unter Umständen selbst das Grab graben. Für die Hefe ist das längst bekannt. Diese Schwierigkeit dürfte die Theorie wohl dadurch umgehen können, daß sie eben eine ökologische, d. h. nur für den natürlichen Standort berechnete ist, und die durch Anhäufung 50 von übermäßigen Stoffwechselprodukten bedingte Selbstschädlichkeit sich wohl am natürlichen Standort weniger leicht geltend macht als unter den unnatürlichen Bedingungen künstlicher Züchtung.

Die ökologische Theorie ist zweifellos noch weiter auszubauen, und darin liegt wohl gerade ihr Hauptwert, daß sie zur weiteren Fragestellung anregt. Es wird noch mehr Zahlenmaterial über die Grenzkonzentrationen von Giften, die von ihren eigenen Erzeugern und von anderen Organismen noch ertragen werden, beizubringen sein. Die allmähliche Angewöhnung an Stoffwechselprodukte, eigene wie fremde, wird studiert werden müssen. Auch an die Abhängigkeit der Giftwirkung vom Nährboden ist zu erinnern; so sei auf die Beobachtung von BEHRENS (2) hingewiesen, daß die Giftigkeit der Ausscheidungen von *Penicillium* und *Botrytis* für Hefe sich vermindert, wenn Pepton im Nährboden zugegen ist, dann an die Beobachtung WEHMER's (10), daß die Giftwirkung der Buttersäure eine verschiedene ist, je nachdem sie in Maische oder anderen Substraten wirkt, ferner an die von E. CHR. HANSEN (s. KLÖCKER [1]) entdeckte Tatsache, daß die Krankheitshefe *Sacch. Pastorianus I* in Rohrzuckerlösung gezüchtet, für einige Zeit ihre krankheitserregende Eigenschaft verliert, schließlich an die Beobachtung HOYER's (1), daß Essigsäurebakterien weit mehr Essigsäure vertragen, wenn diese in Bier als wenn sie in Wasser gelöst ist. Und in allen diesen Fällen wird wieder zu untersuchen sein, ob es sich um eine physiko-chemische Wirkung der Nährstoffe auf den Lösungszustand des Giftes oder um eine durch die Art der Ernährung bedingte Aenderung der Widerstandskraft des Organismus gegen die Gifte handelt.

Wir sehen somit, daß die Pilze, wie alle anderen Wesen, die verschiedensten Waffen im Kampfe ums Dasein anwenden. Während die einen Pilze, wie das neuerdings FALCK (2) für *Coprinus* anschaulich schildert, durch weites Auswachsen ihren Nährboden ganz in Beschlag nehmen, ehe sie zu dessen Ausnutzung und zur Vollendung ihres Entwicklungsganges schreiten, helfen sich die anderen durch chemische Einwirkungen. So wird es auch verständlich, daß manche Gärungen keine oder wenig Arbeit liefern, z. B. die ammoniakalische Gärung des Harnstoffes (s. 3. Kap. d. III. Bds.), auf die JOST (1) in diesem Zusammenhange hinweist. Da aber tatsächlich Prozesse, die Arbeit leisten können, leichter von statten gehen als solche, die Arbeit aufwenden, ist es nicht zu verwundern, daß Gärungen meistens arbeitsleistende Prozesse sind, d. h. bei den in Betracht kommenden Temperaturen, innerhalb deren Leben möglich ist, auch meistens exotherm verlaufen; was eben den weiteren Vorteil hat, daß sie, falls nötig, der Schaffung von Betriebsenergie dienen können.

WORTMANN (2) hat sich die Anschauung gebildet, daß die Bildung von Gärungsprodukten ursprünglich nur eine Schaffung von Kampfmitteln vorstellte, und daß die Gärungserreger allmählich, durch gelegentlichen Sauerstoffmangel veranlaßt, gelernt hätten, einen Teil der bei der Gärung freiwerdenden Energie für ihren Lebensbetrieb zu verwenden. Näheres darüber kann hier nicht ausgeführt werden; es muß vielmehr auf die Arbeiten WORTMANN's oder auch auf die Darstellung ALFR. FISCHER's (2) verwiesen werden.

§ 76. Der Wassergehalt des Nährbodens.

In dem vorliegenden Paragraphen soll die Frage geste
einer Anzahl von Beispielen beantwortet werden, inwiew
hältnis zwischen Wasser und darin gelösten Stoffen

und die ganze Lebenstätigkeit von Bedeutung ist. d. h. die **Frage nach der minimalen, optimalen und maximalen Konzentration der Nährlösung.** Soweit die betreffenden Stoffe rein physikalisch nach Maßgabe ihres osmotischen Druckes wirken, wäre sie allerdings erst im folgenden Abschnitte dieses Handbuches zu erörtern. Weil aber natürlich alle Stoffe, seien es Nährstoffe oder nicht, neben ihrer rein osmotischen auch eine mehr oder minder deutlich hervortretende spezifische d. h. chemische) Wirkung äußern, sei hier die ganze Frage im Zusammenhange bearbeitet. Betreffs des ziemlich umfangreichen Zahlenmateriales, das hier beizubringen ist, darf die Bemerkung nicht unterdrückt werden, daß dessen Zuverlässigkeit, zumal die Vergleichbarkeit der Zahlen untereinander, schwer darunter leidet, daß viele Forscher nicht angeben, ob ihre Befunde sich auf Gewichts- oder auf Volumprozente beziehen, was für die in Betracht kommenden hohen Konzentrationen keineswegs gleichgültig ist. In anderen Fällen ist zwar von Gewichtsprozenten die Rede, aber die Forscher sprechen dabei z. B. von 110 proz. Lösungen; und es bleibt ungewiß, ob tatsächlich trotz gegenteiliger Angabe mit Volumprozenten zu rechnen ist, oder ob 110 g Substanz zu 100 g Wasser hinzugefügt wurden, d. h. in Wirklichkeit eine bloß 52,4-proz. Lösung verwendet worden ist.

Daß für das Wachstum der **Schimmelpilze** und der **höheren Pilze** ein **osmotischer Druck** des Außenmediums nicht allgemein nötig ist, lehrt schon das Luftleben vieler Pilzhyphen. Auch die Keimung der Sporen ist nicht immer an osmotischen Druck des Außenmediums gebunden, da viele in reinem Wasser keimen, und wenn das nicht der Fall ist, doch im allgemeinen nicht Mangel an osmotischem Druck sondern an chemischer Reizung durch gelöste Stoffe daran Schuld trägt (vgl. den folg. Par.). Im übrigen ist festzustellen, daß bei vielen Schimmelpilzen eine recht weitgehende Unabhängigkeit gegen etwas höheren oder niedrigeren Druck besteht; um nur ein Beispiel aus der neuesten Literatur zu nennen, gibt NIKITINSKY (1) an, daß das Trockengewicht der Ernte von *Aspergillus niger* nicht geändert wird, wenn man die Konzentration der Nährsalze von 1,3 Proz. auf 13 Proz. erhöht. Daß es aber auch Arten gibt, welche einen nicht unbeträchtlich hohen osmotischen Druck für üppiges Gedeihen nötig haben, lehrt z. B. die Beobachtung von KLEBS (1), daß *Aspergillus repens* auf 80-proz. Zuckerlösungen besser als auf 20-proz. wächst und auf letzteren besser als auf 15-proz.; Näheres darüber weiter unten. Daß nicht etwa unersättliche Zuckergier sondern das Bedürfnis nach erheblichem osmotischem Druck sich darin ausspricht, zeigt die Erfahrung dieses Forschers, daß man den Zucker zum Teil durch Chlornatrium oder Salpeter ersetzen kann. Ist somit *Aspergillus* ein Beispiel eines Pilzes, bei dem die untere Grenze des für üppiges Gedeihen notwendigen osmotischen Druckes auffallend hoch liegt, so gilt das Umgekehrte für den Abwasserpilz *Leptomitus lacteus*, der nach KOLKWITZ (3, 4) schon durch 0,5—0,6 Proz. von Natriumchlorid oder anderen Salzen geschädigt wird. Im allgemeinen werden aber weit höhere, wenn auch spezifisch verschiedene Konzentrationen vertragen. So fand REINHARDT (1), daß *Peziza sclerotiorum* noch auf 60-proz. Rohrzuckerlösung wächst. BRUHNE (1) sah *Hormodendron hordei* sogar noch auf einer 110-proz. Lösung (?) desselben Stoffes gedeihen. Für d-Glucose finden wir die folgenden Grenzzahlen angegeben: *Basidiobolus ranarum* (RACIBORSKI) 25 Proz., *Mucor racemosus* (KLEBS) 25 Proz., *Penicillium glaucum* (Derselbe) 51 Proz., *Aspergillus niger* (Derselbe) 53 Proz., *Botrytis cinerea* (ESCHENHAGEN) 55 Proz., *Hormodendron*

hordei (BRUHNE) 80 Proz., *Aspergillus repens* (KLEBS) 100 Proz. Es herrschen also bald größere, bald geringere spezifische Unterschiede. Dasselbe gilt für die Widerstandsfähigkeit gegen Salzlösungen; man vgl. darüber die folgende, von ESCHENHAGEN (1) herrührende Tabelle, in der nebenbei auch für Glycerin die höchsten, das Wachstum erlaubenden 5 Konzentrationen verzeichnet sind:

	Glycerin	$NaNO_3$	KCl	NaCl	$CaCl_2$
Penicillium glaucum	43 Proz.	21 Proz.	17 Proz.	19 Proz.	17 Proz.
Aspergillus niger	43 "	21 "	18 "	17 "	18 "
Botrytis cinerea	37 "	16 "	16 "	12 "	16 "

10

Während also diese drei Schimmelpilze (insbesondere die zwei erstgenannten) keine allzu großen Unterschiede zeigen, erhalten wir andere Werte, wenn wir andere Arten mit in den Vergleich einbeziehen. So verträgt z. B. nach RACIBORSKI (1) *Basidiobolus* nur 10 Proz. Natronsalpeter, 11 Proz. Kalisalpeter, 6 Proz. Natriumchlorid, während andrer- 15 seits nach BRUHNE *Hormodendron hordei* weit höhere Konzentrationen vertragen dürfte als die von ESCHENHAGEN untersuchten Pilze, z. B. 40 Proz. $NaNO_3$, 20 Proz. NaCl, 25 Proz. $CaCl_2$. Einige weitere Zahlen werden unten bei Besprechung des Unterschiedes in der Empfindlichkeit des vegetativen und des fruktifikativen Lebens der Pilze gegen hohe 20 Konzentrationen zu bringen sein. Hier genüge der Hinweis darauf, daß sich schon aus dem angeführten Zahlenmaterial erkennen läßt und eine Umrechnung auf isosmotische Werte überzeugend dartun würde, daß die verschiedenen Lösungen auf ein und denselben Pilz nicht immer genau nach Maßgabe ihres osmotischen Druckes wirken. 25

Sehr beachtenswert ist die Tatsache, daß für die einzelnen Arten die Werte der **Grenzkonzentrationen** nicht konstant sind, daß sich vielmehr, wie ERRERA (1) in einer auf Versuchen HUNGER's basierten interessanten Studie zeigen konnte, eine gewisse Anpassungsfähigkeit, wie an andere Bedingungen so auch an erhöhte Konzentrationen, ergibt. 30 Konidien von *Aspergillus niger*, die auf starken Nährlösungen herangewachsen sind, können auf stärkeren Lösungen auskeimen, als Konidien von normaler Herkunft dies vermögen, oder keimen mindestens rascher aus als diese letzteren. Dieser Unterschied tritt besonders dann auffällig hervor, wenn nicht eine sondern zwei Generationen 35 auf konzentrierten Lösungen gezüchteter Decken vorhergingen. Daß tatsächlich erbliche „Anpassungen" vorliegen, schließt ERRERA daraus, daß Konidien, die auf konzentrierten Lösungen herangewachsen sind, nachher auf konzentrierten Lösungen besser auskeimen als auf verdünnten. Es kann nach diesen Erfahrungen nicht wundernehmen, 40 daß bei derartigen Untersuchungen verschiedene Autoren mit „demselben" Pilze zu verschiedenen Befunden gelangen; ERRERA selbst konnte feststellen, daß sein Pilz höhere Konzentrationen vertrug als der von ESCHENHAGEN gezüchtete *Aspergillus*.

Das **Wachstum auf konzentrierten Lösungen** ist bei Schimmel- 45 pilzen und höheren Pilzen natürlich nur dadurch möglich, daß auch der Zellsaft unter entsprechend erhöhten osmotischen Druck gesetzt wird. Die Untersuchungen von ESCHENHAGEN und RACIBORSKI (1) haben gezeigt, daß dabei im allgemeinen eine Ueberregulierung des Turgors stattfindet; *Basidiobolus* z. B. erhöht seinen Turgor beträchtlich über 50 das Normalmaß, wenn verhältnismäßig geringe, etwas weniger stark, wenn große Mengen von Natronsalpeter der Nährlösung zugefügt werden.

Schon diese Ueberregulierung zeigt, oder macht doch wahrscheinlich, daß nicht lediglich eine Stoffaufnahme von außen für die Erhöhung des Turgors sorgt, sondern daß der Pilz auch regulatorisch Turgorstoffe für diesen Zweck sich beschaffen kann. VON MAYENBURG (1) zeigte denn auch, 5 daß beim Wachstum von *Aspergillus* auf konzentrierten Lösungen nur Glycerin von außen aufgenommen wird, daß in anderen Fällen aber Stoffe unbekannter Art, vielleicht irgend welche Oxydationsprodukte des Zuckers, als turgorerhöhende Stoffe wirken. Jedenfalls handelte es sich nicht um Salze organischer Säuren. Dem sicheren Nachweis derselben 10 stellten sich unüberwindliche technische Schwierigkeiten entgegen. Uebrigens dürfte es wohl ganz außer Zweifel stehen, daß je nach der Ernährung verschiedene Stoffe diesem Zwecke dienstbar gemacht werden. So wäre es sehr wunderlich, wenn z. B. bei Zuführung von Kalisalpeter als Stickstoffquelle und dadurch bedingter Bildung von Kaliumoxalat 15 dieses Salz nicht als Turgorstoff diente; MAYENBURG arbeitete mit Ammoniumnitrat. Wie nun auch diese Frage im einzelnen Fall zu beantworten sein mag, soviel ist sicher, daß, wenn Stoffe von außen aufgenommen werden, dies nicht wahllos geschieht; das zeigt u. a. auch die Angabe von FALCK (1), daß in der Asche von *Sporodinia*, die auf starken Lösungen 20 von Jodiden und Bromiden herangewachsen war, weder Jod noch Brom nachgewiesen werden konnten. Es liegen somit ganz zweifellos Beobachtungen vor, welche das Vorkommen des „spezifischen Wahlvermögens“ bei Pilzen beweisen. Zu vergleichen wäre noch die mir während der Drucklegung zugegangene Arbeit von PANTANELLI (1), die nicht 25 mehr berücksichtigt werden konnte.

Ueber bemerkenswerte **formative Erfolge erhöhter Konzentration** bei Schimmelpilzen sind noch einige Angaben anzufügen. ESCHENHAGEN (1) beobachtete an seinen Pilzen ein Anschwellen der Hyphenenden, ferner bei *Aspergillus* auch Sinken der Zellgröße und Verstärkung 30 der Wände. RACIBORSKI's (1) *Basidiobolus* zeigte in starken Lösungen Wandverdickung, Bildung von Riesenzellen und Vielkernigkeit. Nach PURIEWITSCH (3) wächst *Aspergillus pseudoclavatus* in 50-proz. Zuckerlösungen unter perlschnurförmiger Ausbildung seiner Zellfäden. BRUHNE (1) sah sein *Hormodendron hordei* bei starken Konzentrationen von 35 Magnesiumsulfat oder von Calciumchlorid eigenartige Gemmenverbände bilden. Ganz besonders eigenartig ist die Beobachtung, daß bei demselben Pilze Magnesiumsulfat in niederen und mittleren Konzentrationen die Ausbildung einer warzigen, in hohen aber einer glatten Konidienmembran bewirkt, während Natronsalpeter sich gerade umge- 40 kehrt verhält. WERNER (1) sah *Nectria* in 50-proz. Dextrinlösungen in Form eines korallenartigen Mycels wachsen. Aehnliche Erfolge hatten Sulfate in höheren Konzentrationen. Chloride der alkalischen Erden (30 Proz.) bewirkten blasige Anschwellungen. SCHOSTAKOWITSCH (1) beobachtete, daß *Dematium* durch starke Konzentrationen veranlaßt 45 wird, zu Zellfäden auszuwachsen. Ganz besonders beachtenswert ist die Angabe desselben Forschers, daß bei bestimmten Konzentrationen (10 Proz. Kalisalpeter in verdünntem Traubensaft) *Cladosporium herbarum* und *Hormodendron cladosporioides* einander so ähnlich werden, beide eine warzige Konidienmembran und durchwachsene Konidienträger bilden, 50 daß man sie nicht mehr unterscheiden kann. Hier ist also durch die Ernährung das in Mitleidenschaft gezogen, was KLEBS (6) als „spezifische Struktur“ bezeichnet. Eingehende Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Konzentrationen organischer Substanzen auf das Mycel des

Aspergillus repens verdanken wir Klebs (1). Auf 20-proz. Zuckerlösungen bleibt das Mycel klein, die Verzweigung ist lebhaft, das Auswachsen der Haupthyphen träge, die meisten Hyphen wachsen untergetaucht. Auf 80-proz. Lösungen dagegen bildet sich ein weit ausgreifendes Mycel, zum Teil untertauchend, zum großen Teil aber 5 hochstrebend, locker mit sehr zarten und durchsichtigen Hyphen. Auch die so bekannten eigenartigen Umbildungen des normalerweise schlauchförmigen Mycels von *Mucor racemosus* stehen, wie Klebs (1, S. 524) zeigte, z. T. unter der Herrschaft der Konzentration. So bewirken starke Lösungen von Traubenzucker (50—60 Proz.), von Rohrzucker (60 bis 10 70 Proz.), von Glycerin (25—30 Proz.), von Salpeter (10 Proz.), daß die Pilzhyphen sich lebhaft verzweigen, durch häufige Querwandbildung bald langzellig, bald kurzzellig werden und unregelmäßige Anschwellungen zeigen. Wir werden auf weitere Abänderungen noch unten im § 78 einzugehen haben. Nach Beauverie (1) bewirkt erhöhter osmoti- 15 scher Druck der Nährlösung, daß die Länge der in die Luft ragenden Teile reduziert wird, die Breite der Zellen dieser Teile zunimmt. Der untergetauchte Teil des Mycels vergrößert sich im Verhältnisse zu dem in die Luft ragenden ähnlich wie unter anderen ungünstigen Ernährungsbedingungen (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Clonostachys* usw.). In 20 betreff des Basidiomycetenmycels verdanken wir Falck (2) einige neuere Angaben; dieser Forscher nimmt an, daß das „Oidienmycel" (z. B. von der auf Hutpilzen wachsenden *Collybia tuberosa*) berufen sei, aus konzentrierten, das „Basidienmycel" hingegen aus verdünnten Nährlösungen zu schöpfen. 25

Die **Beeinflussung der Fruktifikation durch die Konzentration** erheischt eine besondere Besprechung. Zunächst sind zwei Pilze zu behandeln, denen zur normalen Ausbildung der Fortpflanzungsorgane ein gewisser osmotischer Druck, gepaart mit anderen Eigenschaften der Nährlösung unerläßlich ist. Der eine ist der schon erwähnte *Asper-* 30 *gillus repens*. Er wächst zufolge Klebs (1, S. 463) bei Anwesenheit von 0,2 Proz. Dextrose ganz kümmerlich und steril. Bei 1,5 Proz. kommen einzelne anomale Konidienträger. Bei 6—8 Proz. können die verlängerten Sterigmen schon einzelne Konidien abschnüren; das Mycel ist aber auch jetzt noch nicht normal, sondern aus blasig aufgetriebenen 35 Zellen gebildet. Auch bei 20 Proz. zeigt sich erst ein Teil der Konidienträger normal entwickelt, ein anderer hat Neigung zu mycelialer Umbildung. Bei 80 Proz. treten normale Träger in großer Anzahl auf. Auch für die Zygotenbildung von *Sporodinia*, als dem zweiten Beispiel, ist ein relativ hohes, und, wie es scheint, je nach dem Material wechseln- 40 des Druckminimum unerläßlich. Während Klebs (2 u. 5), dem wir auch diese Beobachtung verdanken, hierbei außer dem Druck auch einem reichlichen Zuströmen von bestimmten Stoffen, insbesondere von Kohlenhydraten, eine ausschlaggebende Rolle zuschreibt (s. § 78), kommt es zufolge Falck (1) wesentlich nur auf die Höhe des Druckes an, den er z. B. 45 auch durch Peptonzusatz erzielen konnte, wobei er aber nicht genügend betont, daß bestimmte Nährstoffe, z. B. Zuckerarten, immer vorhanden sein müssen, um die Zygotenbildung zu ermöglichen. Daß nicht bloß die Druckhöhe unabhängig von der Beschaffenheit der Stoffe wirkt, zeigt übrigens Falck (1) selbst durch die Beobachtung, daß Phosphate der Alkalien 50 und Kalksalze schon in verhältnismäßig niederen Konzentrationen die Zygotenbildung hemmen, viele andere Salze nicht. Eine viel größere Anzahl von Beispielen kann für die Tatsache gebracht werden, daß

das Konzentrationsmaximum für die Fruktifikation tiefer liegt als für das vegetative Wachstum. Für *Citromyces* stellte WEHMER (4) fest, daß er bei 5 Proz. Kochsalz oder Chlorcalcium noch wächst, oberhalb 2 Proz. aber steril bleibt. Nach BACHMANN (2) verhindert erhöhte Konzentration die Sporangienbildung von *Mortierella*, fördert aber auf festen Nährböden die Entstehung von Gemmen. KLEBS (3) fand, daß *Saprolegnia* bei 17 Proz. noch wächst, aber bereits oberhalb 0,2 Proz. bis 0,5 Proz steril bleibt. RACIBORSKI (1) zeigte, daß *Saprolegnia* in 10-proz. Gelatine nicht mehr Sporen bildet, wobei dahingestellt bleibt, wieweit hier die Konzentration mitwirkt. Nach SCHOSTAKOWITSCH (3) wächst *Mucor prolifer* jenseits 6 Proz. Kalisalpeter nur noch steril, 3,5 Proz. erlaubte noch volle Entwicklung, 12 Proz. ist das Maximum für vegetatives Wachstum. Verhältnismäßig hohe Werte fand dagegen derselbe Forscher für *Hormodendron cladosporioides* und *Cladosporium herbarum*. Beide wachsen noch bei 100 Proz. Rohrzucker (?), das Maximum für die Konidienbildung aber liegt für *Hormodendron* bei 65 Proz., für *Cladosporium* bei 25,5 Proz. Rohrzucker bzw. 25 und 18 Proz. Kalisalpeter. Auch BRUHNE (1) hatte für sein *Hormodendron hordei* sehr hohe Grenzkonzentrationen gefunden. Etwas verwickelter liegen zufolge KLEBS (1) die Verhältnisse bei *Asp. repens.* Während hier für bestimmte organische Stoffe die Konzentrationsgrenze für Wachstum und Konidienbildung ziemlich genau zusammenfällt (95 Proz. Traubenzucker, 57 Proz. Glycerin), gehen sie für anorganische Salze auseinander. Bei 36 Proz. Natronsalpeter trat keine Keimung, bei 20—25 Proz. aber schon keine Konidienbildung mehr ein. Perithecien wurden schon jenseits 20 Proz. nicht mehr gebildet. Für *Nectria cinnabarina* liegt nach WERNER (1) die Konzentrationsgrenze von Lösungen der Salze $CaCl_2$, $MgCl_2$, Na_2SO_4, KH_2PO_4, $MgSO_4$, Na_2HPO_4, $NaNO_3$ für das vegetative Wachstum niedriger als für die Fruchtbildung. Sie ist identisch für Vegetation und Fruktifikation bei Verwendung von Alkalichloriden und Kalisalpeter. Die Tatsache, daß die Fortpflanzung im allgemeinen keine so hohen Drucke verträgt wie das vegetative Leben, schließt natürlich nicht aus, daß die Fortpflanzung, solange die zulässige Grenze nicht überschritten ist, durch die Konzentration beschleunigt wird, wie das FALCK (1) für *Sporodinia* erwies.

Die Beziehungen der Hefen zum osmotischen Druck können wir hier viel kürzer abhandeln, um so mehr als die Vergärung verschieden stark konzentrierter Zuckerlösungen und Moste etc. eingehend an anderen Stellen dieses Buches betrachtet werden wird. Ein Minimum des osmotischen Druckes für das Gedeihen der Hefen ist nicht bekannt, wenn wir von den unerläßlichen Nährstoffen absehen. Daß gewisse Hefen gewaltige Konzentrationen vertragen, läßt sich aus vielen Mitteilungen folgern. So gibt LAURENT (1) an, daß die von ihm untersuchten Arten noch 60-proz. Zuckerlösungen vergären konnten. Ferner beschreibt WEHMER (8) eine (jedenfalls aus dem Meere stammende) Hefe, die er in Heringslake aufgefunden hatte, welche bei einem Gehalt der Lösung von 15 Proz. Chlornatrium, allerdings schwächlich, wuchs und wohl noch stärkere Konzentrationen vertragen haben würde. Auch die Hefen zeigen die Anpassungsfähigkeit, die wir am *Aspergillus* oben schon kennen gelernt haben, wie man der Mitteilung von CLERFEYT (1) entnehmen kann. Auch hier war nicht nur die Höhe des osmotischen Druckes, sondern auch die Beschaffenheit des Salzes, insbesondere der

Kation-Komponente, von Bedeutung. Auch die Arbeit von LEPOUTRE (1) ist für diese Frage einzusehen.

Wir wenden uns nun den **Spaltpilzen** zu. Von vielen Meeresbakterien ist bekannt, daß sie eine gewisse Salzkonzentration bedürfen; kritische Arbeiten darüber, wie weit hier entweder der osmotische Druck 5 oder das Bedürfnis nach Natrium oder anderen Kationen oder die kräftige Reizwirkung des Anions Chlor mitspielt, fehlen allerdings fast ganz. Auch über die Frage der Anpassungsfähigkeit an Süßwasser liegen erst wenige Untersuchungen vor. Bekannt ist das große Salzbedürfnis der Leuchtbakterien; Näheres darüber ist im 25. Kapitel zu 10 finden. Von anderen Meeresbakterien sind in dieser Beziehung die von GRAN (1) in der Nordsee gefundenen Denitrifikationsbakterien (*Bac. trivialis* und *Bac. repens*, die aus Nitrat Ammon bilden, und *Bac. Hensenii*, welcher freien Stickstoff entbindet) als Arten zu erwähnen, die Salz nötig haben; *B. Hensenii* wurde zwar durch Süßwasser nicht getötet, 15 aber doch so stark gehemmt, daß er in der freien Natur jedenfalls ohne einen gewissen Salzgehalt sich nicht behaupten kann. Auch die durch NATHANSOHN (1) in dem Neapler Golfe gefundenen Schwefelbakterien dürften unbedingt Salzzusatz zu ihrem Nährboden nötig haben. *Microspira aestuarii*, die nach VAN DELDEN (1) im Meere dem Geschäfte der 20 Schwefelsäurereduktion obliegt, versagt, wenn ihr das Salz entzogen wird, arbeitet aber noch bei Anwesenheit von 18 Proz. Kochsalz. Umgekehrt stellt die Süßwasserform *M. desulfuricans* schon bei Gegenwart von 3 Proz. NaCl ihre Tätigkeit ein. Bei einem Gehalte von 0,5 bis 1,5 Proz. sind beide leistungsfähig. Gegen schnellen Wechsel in der 25 Konzentration sind sie aber sehr empfindlich. Letzteres gilt auch von gewissen Seespirillen, worüber MASSART (1) Mitteilungen gemacht hat. In betreff anderer Seewasserbakterien sei auf die Arbeiten von RUSSEL (1) und GUIGNARD (1) verwiesen. Erwähnt soll aber noch werden, daß auch aus den Meeren Bakterien gezüchtet worden sind, 30 welche sich ohne weiteres niedrigeren Konzentrationen anpassen lassen; so z. B. die durch BAUR (1) aus der Ostsee erhaltenen Denitrifikationsbakterien, ferner die von KEUTNER (1) beschriebenen stickstoffbindenden Arten aus der Ostsee, Nordsee und dem indischen Ocean. Der letztgenannte Forscher konnte ermitteln, daß ein aus Seewasser rein gezüchteter 35 *Azotobacter* noch bei Anwesenheit von 8 Proz. Kochsalz wuchs und Stickstoff zu binden vermochte. In einer Versuchsreihe erreichte diese Art bei 2 Proz. NaCl ihr Optimum der Stickstoffbindung.

Wir führen nun eine Anzahl von Arbeiten an, durch welche die von Bakterien noch zu ertragende **obere Grenze der Konzentration** fest- 40 gestellt worden ist. Es sei zunächst kurz bemerkt, daß schon im gewöhnlichen Meerwasser manche Arten avirulent werden, z. B. nach PRIMA (1) der *Bac. anthracis*. Weitere Angaben über diese Fragen macht FORSTER (1), auf dessen Arbeit nur hingewiesen werden kann, ferner DE FREYTAG (1), welcher für mehrere pathogene Arten die 45 Konzentrationsgrenze für Wachstum und Lebensfähigkeit ermittelt hat. PETTERSON (1) kam zu dem Ergebnisse, daß viele Bakterienarten von Stäbchengestalt nicht mehr oberhalb 15 Proz., Kokken jedoch noch bei 20 Proz. Kochsalzgehalt wachsen konnten. Ganz neuerdings beschreibt LEWANDOWSKY (1) einen Kokkus und eine Stäbchenart, welche er mittelst 50 elektiver Kultur gewonnen hatte, und die noch bei Anwesenheit von 25 Proz. Kochsalz, wenn auch verlangsamt wuchsen. Er fand auch, daß von Kaliumsalzen höhere Ionenkonzentrationen als von Natriumsalzen er-

tragen werden. Die ganze Frage ist in Hinblick auf die Konservierung von Lebensmitteln von großer Wichtigkeit. Näheres darüber ist insbesondere im 21. Kapitel dieses Bandes und im 12., 19. und 22. Kapitel des II. Bandes zu finden; vgl. auch S. 22 des V. Bandes.

5 Auf den Schluß aufgespart haben wir die Besprechung zweier besonders wichtiger, hierher gehöriger Arbeiten von W. ZOPF (2) und A. FISCHER (1). Der erstere wies für das durch ihn aus amerikanischem Baumwollsaatmehl herausgezüchtete *Bact. vernicosum* nach, daß es von Kohlenhydraten sehr hohe Konzentrationen vertragen kann; so wächst und gärt es noch in 10 Lösungen, welche 70 Proz. Saccharose oder ebensoviel Dextrin oder 50 Proz. Milchzucker enthalten, entwickelt sich auch noch in 40-proz. Glycerinlösungen. In diesem Zusammenhang weist ZOPF auf die Angaben von LÜBBERT hin, daß *Staphylococcus aureus* noch auf einer mit 48 Proz. Rohrzucker beschickten Gelatine sich vermehrt; ferner darauf, 15 daß GRÄFENHAN den *Bac. disciformis* auf 60-proz. Rohrzuckerlösung eine Kahmhaut bilden, ja sogar noch auf 70-proz., wenn auch kümmerlich, wachsen sah. Auch auf 70-proz. Dextrinlösung bildete diese letztgenannte Art noch eine Kahmhaut. Besonders bemerkenswert ist die verschiedenartige Beeinflussung verschiedener Partialfunktionen des *Bact. vernicosum*. Wir geben die Befunde am besten mit ZOPF's eigenen Worten wieder: 1. Die Konzentrationsgrenzen für sichtbare Gasentwicklung, Säuerung und Vermehrung fallen nur bei wenigen der angewandten Salze zusammen ($BaCl_2$, $CaCl_2$, $MgCl_2$, K_2HPO_4). 2. Die Konzentrationsgrenzen differieren am meisten für Kochsalz (Gasbildung: 5—8 Proz., 25 Säuerung: 10—12 Proz., Vermehrung: 18—20 Proz.). Die Konzentrationsmaxima der Vermehrung liegen für einige Salze auffallend hoch (Na_2SO_4: 15—18 Proz., NaCl: 18—20 Proz., K_2HPO_4 (neutralisiert): 20—22 Proz., $MgSO_4$: 25—28 Proz.). 4. Die Konzentrationsmaxima der Säuerung und Gasbildung liegen auffallend hoch, für $MgSO_4$: 15—18 Proz., K_2HPO_4: 30 20—22 Proz. A. FISCHER (2) legte an den durch ZOPF ermittelten Befunden dar, daß es sich bei den Grenzkonzentrationen keineswegs um isosmotische Werte handelt, und erwies die Richtigkeit seiner Ansicht auch am *Bac. subtilis*; bei diesem lagen die Grenzen des Wachstums für Salmiak bei 8 Proz., für Kalisalpeter erst bei 21 Proz.

35 In Hinsicht auf formative Wirkungen haben die Untersuchungen gezeigt, daß viele Bakterien infolge Erhöhung der Konzentration zu Involutionsformen sich umbilden, andere hingegen nicht, wie auch, daß die Geißelbewegung früher als das Wachstum eingestellt wird, und zwar, nach A. FISCHER (1), infolge einer durch die hohen Konzentrationen 40 bewirkten Geißelstarre. MATZUSCHITA (1) fand, daß viele Bakterien noch bei 10 Proz. Kochsalz ohne Gestaltsabweichungen wachsen, andere, wie z. B. der Pestbazillus, werden schon durch niedere Konzentrationen zu abnormen kugligen Gestalten verändert. Die von ihm (2) untersuchten Anaeroben hingegen neigten, abgesehen von *Clostrid. butyricum*, 45 nicht zur Bildung solcher Zerrgestalten. Die von LEWANDOWSKY (1) studierten Arten wurden durch hohe Konzentration zwar nicht in ihrer Gestalt verändert, wuchsen aber unbeweglich und zeigten Neigung zur Fadenbildung. Es braucht kaum nochmals betont zu werden, daß solche Involutionen nicht bloß von der Höhe des osmotischen Druckes sondern 50 auch von der Art der Salze abhängen. ZOPF beobachtete z. B., daß insbesondere Magnesiumsalze häufig die Neigung zur Bildung solcher Mißgestalten hervorrufen.

Auch in betreff der Bakterien haben wir, wie bei den Schimmel-

pilzen, zum Schlusse die Frage zu stellen, ob durch Erhöhung der Konzentration die Fruktifikation, d. h. die **Sporenbildung** früher als das Wachstum gehemmt wird. Das scheint nun auch tatsächlich der Fall zu sein, mindestens für gewisse Arten. Für die von ihm untersuchten Anaeroben gibt MATZUSCHITA (2) einige Zahlen an, die wir in der 5 folgenden Tabelle zusammenstellen.

	Grenze der Konzentration in Proz. NaCl für	
	das Wachstum:	die Sporenbildung:
Bac. oedematis maligni	7,5	6,5
„ *sporogenes*	7,0	5,0
„ *botulinus*	7,5	2—5
Clostridium butyricum	6,5	2—4

10

Als Konzentrationsoptimum für die Sporenbildung der genannten Arten fand MATZUSCHITA (2): 0,25—0,5 Proz. NaCl, 5—10 Proz. Dextrose. *Bac. disciformis* zeigt zufolge ZOPF (2) auf 80-proz. Dextrinlösung noch 15 Sporenbildung.

Ueber die von A. FISCHER (2) gegebene, auf die Verschiedenheit in der Durchlässigkeit der Plasmamembran für gelöste Stoffe gegründete Einteilung der Bakterien in die zwei Gruppen der permeablen und impermeablen vergleiche man den folgenden Abschnitt dieses Bandes. 20

§ 77. Chemische Reizwirkungen.

Abgesehen von den Nährstoffen gibt es noch gewisse andere Stoffe, welche, ohne in den Bau der Pilze eingehen zu müssen, doch in den Stoffwechsel und das Wachstum auslösend und fördernd eingreifen, Stoffe, deren Wirkung man als „chemische Reizung“ zu bezeichnen 25 pflegt. Ihre Abgrenzung gegen die Nährstoffe ist übrigens vielfach sehr unsicher und willkürlich, denn auch von vielen sog. Nährstoffen ist es unbekannt, ob sie die lebende Substanz aufbauen helfen, oder ob sie auf andere Weise den Betrieb ermöglichen. Auch gegen die Gifte kann man solche Reizstoffe um so weniger abgrenzen, als gerade jene, in hin- 30 reichender Verdünnung geboten, solche fördernde Reizwirkungen auszuüben vermögen.

Mit einer gewissen Willkür sollen im folgenden von derartigen chemischen Reizwirkungen, deren Anzahl sehr groß ist, zwei Gruppen, welche eine gewisse Bedeutung für die technische Mykologie haben, 35 herausgegriffen werden. Erstens betrachten wir die die Keimung auslösende Wirkung bestimmter Stoffe auf Konidien, Sporen oder andere Fortpflanzungszellen der Pilze. Zweitens soll die günstige Wirkung kleiner Mengen von Giftstoffen besprochen werden, welche, wie bekannt, für manche Gärungsbetriebe von Bedeutung geworden sind. 40

In betreff der **Auslösung der Sporenkeimung durch chemische Reizung** ist vor allem darauf hinzuweisen, daß für die Keimung der Sporen etc. tropfbar flüssiges Wasser gewiß unerläßlich ist (s. § 96). Ob aber dieses im Verein mit dem notwendigen Sauerstoffzutritt und zureichender Temperatur genügt, die Keimung in Gang zu setzen, oder 45 ob es noch gelöste Stoffe enthalten muß, die erst die Keimung ermöglichen, das ist die Frage, die wir jetzt zu behandeln haben. Es wird sich empfehlen, zunächst einige der wichtigeren Erfahrungen BREFELD's (2 u. 3) und anderer Mykologen anzuführen. BREFELD fand im Jahre

1874, daß zwar die Sklerotien, nicht aber auch die Konidien von *Penicillium* bei Zufuhr reinen Wassers zum Leben erwachen, vielmehr bedürfen letztere einer (wenn auch minimalen) Menge organischer Stoffe zur Keimung. Es sei hier die gleichlautende Erfahrung ROTHERT's (1)
5 an *Sclerotium hydrophilum* angefügt. Die Sklerotien dieses Pilzes keimen in reinem Wasser, die Konidien aber nicht; diese bedürfen der chemischen Reizung, etwa durch ein Stück eines Melampyrumblattes. Besonders bemerkenswert sind ferner die folgenden Angaben BREFELD's. Die meisten Brandsporen, ausgenommen aber z. B. die von *Ustilago carbo*
10 und *Ustilago violacea*, keimen nicht im Wasser, falls doch, bilden sie nur vegetatives Mycel und keine Sporidien. Sporen von *Ustilago Maydis* keimten in Wasser nur dann, wenn sie eine Ruheperiode durchgemacht hatten, z. B. nicht im August desselben, wohl aber im April des nächsten Jahres. Werden andrerseits die Sporen zu lange ruhend aufbewahrt, so
15 ist wieder eine chemische Reizung zur Keimung unerläßlich: die Sporen von *Ustilago Panici miliacei* keimten nach 8 Jahren bloß noch in Nährlösungen. Von *Setaria* keimen in Wasser die Brandsporen und die Fadensporen, nicht aber die aus den Fadensporen hervorgegangenen Konidien. Von anderen Pilzen, die BREFELD erwähnt, sei noch *Dacry-*
20 *omyces* genannt; weder die Konidien noch die Gemmen dieses Pilzes keimten in Wasser. Die Basidiosporen von *Heterobasidion annosum* keimten in Wasser nur sehr langsam, gut aber in Nährlösungen. In diesem Zusammenhange darf wohl auch die weitere Erfahrung BREFELD's erwähnt werden, daß Brandsporen durch Züchtung in künstlichen Nähr-
25 lösungen ihre Infektionstüchtigkeit verlieren, womit vielleicht zum Teil auch eine Aenderung der für die Keimung nötigen Bedingungen parallel geht. Wir haben diese Erfahrungen hier vorweggenommen, weil sie deutlich zeigen, daß bei derartigen Keimungsversuchen nie das Vorleben und das Alter der Versuchsobjekte außer acht gelassen werden dürfen,
30 die weit mehr Berücksichtigung verdienen, als ihnen in den Arbeiten, deren Besprechung wir uns jetzt zuwenden, meist zuteil geworden ist. Es werden also die Ergebnisse dieser letzteren später möglicherweise eine Abänderung ihrer Deutung erfahren; umgekehrt darf allerdings auch hervorgehoben werden, daß von den obigen Angaben BREFELD's
35 über Keimfähigkeit in reinem Wasser vielleicht die eine oder die andere auf die Dauer nicht wird aufrecht erhalten werden können, weil die an die Reinheit des Wassers zu stellenden Anforderungen ganz außerordentlich hohe sind, wie die neueren physiologischen Untersuchungen ergeben haben.

40 In dieser Hinsicht ist vor allem die Arbeit DUGGAR's (1) lehrreich. Dieser Forscher zeigte zunächst, daß von seinen Versuchsobjekten nur die Sporen von *Botrytis vulgaris* (wie früher schon BÜSGEN [2] gefunden hatte), von *Oedocephalum album* und von *Uromyces caryophyllinus* auf reinem Wasser keimten, die des letztgenannten sogar besser auf Wasser
45 als auf Bohnendekokt, nicht aber auch die von *Aspergillus*, *Penicillium*, *Phycomyces*. Es genügte aber bereits, daß das Wasser über Paraffin, d. h. einem „unlöslichen" Körper, stand, um die Keimschläuche von *Aspergillus niger* und *Aspergillus flavus*, nicht die von *Penicillium* und *Phycomyces* hervorzulocken. Aethylalkohol förderte die Keimung bei
50 *Aspergillus flavus*. Aether hatte nur geringe Wirkung. Oxalsäure förderte die Keimung der Konidien von *Aspergillus niger* noch in Konzentrationen, welche den gleichen Vorgang bei *Aspergillus flavus* nicht mehr zuließen. Von anderen organischen Stoffen hatte das Glycerin

bei den meisten Arten eine bessere Wirkung als der Zucker; doch umgekehrt verhält sich der Einfluß dieser Stoffe auf *Aspergillus niger*. Weiter fand DUGGAR, daß in vielen Fällen die Kombination aller Nahrungsmittel als optimale Quelle chemischer Reizung sich betätigte. Um so sonderbarer ist es, daß es umgekehrt auch Stoffkombinationen gibt, die für spätere Stadien der Entwicklung als gute Nahrung sich erweisen, für das Keimungsstadium aber verderblich sind, wie schon früher BREFELD an verschiedenen Rost- und Brandpilzen festgestellt hatte.

Im Anschlusse an DUGGAR's Arbeit seien eine Anzahl weiterer Befunde mitgeteilt, die zum großen Teile bereits vor jenen veröffentlicht worden sind. BENECKE (1) fand, daß Konidien von *Aspergillus niger* nicht auf Wasser, wohl aber auf Zuckerlösungen auskeimen. MOLISCH (1) stellte an dem gleichen Pilze fest, daß der in Rede stehende Vorgang unterbleiben kann, wenn von allen Nährstoffen nur Magnesiumsalze fehlen, und BENECKE konnte diese Beobachtung für schwach saure Nährlösungen durchaus bestätigen. KLEBS (1) machte genaue Angaben über die Keimungsbedingungen der Konidien von *Eurotium (Aspergillus) repens*. Sie keimten weder auf reinem Wasser, noch auf anorganischen Lösungen, noch auf Pepton, wenn diesem nicht anorganische Salze, etwa Salpeter, zugesetzt war. Auf 0,5-proz. Traubenzuckerlösung fand Keimung statt. TOWNSEND (1) fand, daß schwache Aetherdosen die Keimung von *Mucor*-Sporen und *Penicillium*-Konidien günstig beeinflussen, stärkere aber hemmend wirken. Daß auch Gifte eine fördernde Wirkung ausüben können, zeigt die Arbeit von STEVENS (1), auf die wir gleich noch zurückkommen. Auch freie Säuren ermöglichen die Keimung der Konidien von *Aspergillus*, wie CLARK (1) fand, jedoch nur in Konzentrationen von höchstens 0,5—0,8 Proz., während bei einigen Basidiomyceten neutrale oder alkalische Reaktion Bedingung ist (s. BREFELD [2]). Die mehr beiläufige Angabe von FALCK (1), daß Sporen von *Sporodinia grandis* in Wasser keimen sollen, dürfte wohl erst noch zu bestätigen sein.

Es gibt nun noch eine ganz große Anzahl von weiteren Beobachtungen, in denen die Stoffe, welche die Keimung ermöglichen, nicht genauer bezeichnet werden konnten. So keimen zufolge WARD (3) die Sporen von *Onygena* nur im Magensafte, die Zygoten von *Basidiobolus lacertae* zufolge LÖWENTHAL (1) nur im Eidechsenmagen. Nach FALCK (2) entwickeln sich die Sporen der mistbewohnenden Basidiomyceten nicht in Wasser und nicht in Zuckerlösungen, wohl aber in Mistdekokt, die der holzbewohnenden Basidiomyceten *Hypholoma* und *Pholiota* auf Pilzhutextrakten und auf stark zuckerhaltigen Lösungen, z. B. Bierwürze, Pflaumensaft. Das Wesen der Reizung, welches vielen Pilzsporen erst nach Passieren des Darmkanals die Keimung erlaubt, z. B. *Ascobolus furfuraceus* nach JANCZEWSKI (1), dürfte auch noch genauer zu ermitteln sein. Nach SCHOSTAKOWITSCH (3) keimen die Sporen von *Mucor prolifer* nicht auf Zucker- oder Glycerinlösungen; auch hier ist also die geeignete Stoffkombination erst noch zu ermitteln. Mit Parasiten, die für solche Fragen vielleicht das interessanteste Material darbieten, haben wir uns nicht weiter zu befassen; es muß dahingestellt bleiben, inwieweit Anpassungserscheinungen, etwa von *Botrytis* an gelbe Rüben zufolge WARD (1), von Mehltaukonidien an andere als die bisherigen Wirte zu-folge NEGER (2), inwieweit die weniger tiefgreifende Spezialisierung Konidien im Vergleich mit den Ascosporen von *Erysiphe* auch auf Ae rungen der für die Keimung nötigen Bedingungen beruhen. Die F.

nach den Keimungsbedingungen der Uredineensporen ist insbesondere bei KLEBAHN (1) eingehend erörtert, wo auch alles, was über deren Abhängigkeit von chemischen Reizen zu beachten ist, sich zusammengestellt findet, und wo auch hervorgehoben ist, daß Keimungsfähigkeit und 5 Infektionstüchtigkeit nicht identifiziert werden dürfen, weil letztere der übergeordnete Begriff ist.

Hier mag noch die Bemerkung Platz finden, daß bei Pilzen mit verwickelteren Keimungserscheinungen natürlich auch die einzelnen Phasen der Keimung rücksichtlich ihrer Abhängigkeit von Reizen aus- 10 einanderzuhalten sind. So verdanken wir BÜSGEN (2) den Nachweis, daß die Konidien von *Botrytis*, *Fusicladium* und *Erysiphe* in reinem Wasser wohl ihren Keimschlauch treiben können, daß aber ein chemischer Reiz nötig ist, um die Infektionsfäden aus den Appressorien herauszulocken.

15 Wir haben hier, der Begrenzung unseres Themas gemäß, nur die chemischen Reizungen behandelt, wollen aber nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß zu diesen unter natürlichen Verhältnissen noch andere Reize, welche die Wirkungen der ersteren teils kreuzen, teils fördern, hinzutreten können, so z. B. das Licht etc. Darüber bringt das 16. Kapitel 20 nähere Angaben. Schließlich sei noch daran erinnert, daß in vielen Fällen die Keimung von Fortpflanzungszellen überhaupt noch nie erzwungen werden konnte. Für viele höhere und höchst entwickelte Pilze ist das allbekannt. So versuchte WARD (2) vergebens die Keimung von Sporen der *Peziza aurantia* zu erzielen. Nach FALCK (2) wollen die 25 Oidien vieler Mistpilze nicht keimen. Weitere Beispiele finden sich bei HOLTERMANN (2). Soweit in solchen Fällen nicht inhärente Ruheperioden oder andere innere Ursachen mitspielen, ist eben die Herstellung der richtigen Kombination von Keimungsreizen bisher noch nicht geglückt. In betreff der Abhängigkeit der Keimung der Sporen der Bakterien und 30 der Hefen, die hier übergangen werden, sei auf S. 118 u. f. dieses (I.) Bandes und auf den Zweiten Abschnitt des IV. Bandes verwiesen.

Ebenso unbekannt wie das Wesen der Reizwirkungen, die wir eben betrachtet haben, ist das der nunmehr zu besprechenden anderen Erscheinung, daß gewisse Gifte, in geringen Gaben zugesetzt, das Wachs- 35 tum von Pilzen und den Verlauf von Gärungserscheinungen beschleunigen. Man könnte geneigt sein, diese **fördernde Wirkung kleiner Giftmengen** als katalytischen Vorgang zu deuten, und zwar um so mehr, als wir unten bei Betrachtung von NIKITINSKY's Befunden auch Erscheinungen kennen lernen werden, die ungezwungen mit autokatalytischen Vorgängen 40 in Parallele gesetzt werden können. Immerhin wäre die Bezeichnung derartiger Reizerscheinungen als Katalysen doch zu schematisch, da nicht ein einziger Prozeß sondern der ganze Komplex von Lebenserscheinungen in einer nicht immer einheitlichen Weise beeinflußt wird. Nach PFEFFER (2) sind daher die gekennzeichneten Beschleunigungs- 45 vorgänge besser als physiologische Gegenreaktionen des Organismus zu bezeichnen.

Wenden wir uns zunächst den Schimmelpilzen zu. RAULIN (1) fand, daß durch Zusatz von Salzen des Zinkes und anderer Metalle zu seinem „Liquide Raulin“, d. h. einer recht komplizierten Nähr- 50 lösung, auf der er *Aspergillus niger* züchtete, die Entwicklung stark gesteigert werden kann, so stark, daß er geneigt war, die betreffenden Salze als unentbehrliche Nahrungsstoffe zu betrachten. Unter den von RAULIN geprüften, ertragsteigernden Stoffen ist es aber nur das Eisen,

welches nach Ansicht einiger Forscher, z. B. MOLISCH's (s. § 84), als unentbehrliches Nährelement gelten kann, die anderen aber sind zwar entbehrliche, aber unter Umständen günstig wirkende Reizstoffe. Weitere Untersuchungen an Schimmelpilzen verdanken wir RICHARDS (1). Deren wichtigstes Ergebnis war die Feststellung, daß nicht bloß Salze von Schwermetallen sondern auch organische Gifte, z. B. Morphin und Amygdalin, diese Reizwirkung entfalten. Viele dieser Reizmittel bewirken insofern eine anomale Entwicklung, als sie die Bildung von Fortpflanzungsorganen stark beeinträchtigen und in inniger Verkettung damit eine Steigerung des vegetativen Wachstums bewirken. Auch weiß jeder Forscher, der Pilzdecken unter Zusatz von Reizmitteln gezüchtet hat, daß sie oft sehr derb ausfallen, was auf eine kräftige Ausbildung der Zellwände schließen läßt. RICHARDS fand in einem seiner Versuche, daß eine ohne Zinksulfat herangezüchtete Decke von *Aspergillus niger* 335 mg wog, eine mit Zusatz von 0,002 Proz. gezüchtete aber 730 mg. Ein Zusatz von 0,016 Proz. bewirkte sogar ein Hinaufschnellen des Trockengewichtes auf 770 mg. Diese Zahlen gelten für eine gezuckerte Mineralsalz-Nährlösung; bei Zuführung von Albumose anstatt Ammoniumnitrat (als Stickstoffquelle) trat der fördernde Einfluß des Zinkes stark zurück. Daß auch Kupfersalze bei richtig gewählter Konzentration als Reizmittel wirken können, erwies ONO (1 u. 2); ein Zusatz von 0,004 Proz. Kupfersulfat hatte bei *Aspergillus niger* in gezuckerten Mineralsalz-Nährlösungen eine Verdoppelung des Gewichtes der Ernte zur Folge; 0,064 Proz. hingegen erwies sich schon als beeinträchtigend. Zu einer anderen Auffassung ist RICHTER (1) gelangt, denn er glaubt, aus seinen Versuchsresultaten schließen zu sollen, daß Kupfersalze immer, auch bei starker Verdünnung, lähmend wirken. Er nimmt dies von den nicht dissociierten Molekülen aller Salze an, meint aber, daß die Ionen sich verschieden verhalten, so zwar, daß die Entwicklung z. B. durch die Kupferionen herabgesetzt, durch die Zinkionen aber angeeifert werde. In verdünnten Zinksulfatlösungen soll der Einfluß der Ionen so stark über den der unzersetzten Moleküle des Zinksulfates überwiegen, daß als Gesamtergebnis eine Förderung herausspringt. Diesem an sich interessanten Erklärungsversuch ist aber durch den durch ONO (1 u. 2), später auch durch KANTER (1) geführten Nachweis der Boden entzogen, daß Kupfersalze, in richtiger Verdünnung verwendet, ebenfalls anzueifern vermögen; KANTER befand für den *Aspergillus niger* eine Konzentration von 0,005 Proz. als begünstigend. Was aber in der Arbeit RICHTER's dessen ungeachtet außerordentlich bemerkenswert ist, das ist der in ihr geführte Nachweis, daß die zeitliche Wirkung solcher Reizmittel wohl zu beachten ist. RICHTER fand, daß durch Zusatz von Zinksulfat die Kurve des Trockengewichtes in den ersten Tagen stark emporschnellt, nach 8 bis 10 Tagen aber wieder bis zur Höhe normal ernährter Decken hinabsinkt.

Es war bisher vorwiegend von Kationen als Reizmitteln die Rede. Aber auch Anionen können ähnliche Wirkungen hervorrufen. RAULIN hatte solche schon betreffend die Kieselsäure bemerkt. Oefter aber ist sie am Anion Chlor beobachtet worden; man findet einige Angaben darüber in WEHMER's (4) Arbeit über *Citromyces*, nämlich Förderung durch Chlornatrium und Chlorcalcium, falls weniger als 2 Proz. geboten wurden. Auch STEVENS (1) berichtet, daß Zusatz von Chlornatrium (ebenso von Alkohol) das Wachstum von Keimschläuchen beschleunigt.

Von hohem Interesse ist nun die ganz neuerdings von NIKITINSKY (1)

mitgeteilte Beobachtung, daß nicht nur Zusatz derartiger **Reizstoffe** sondern auch von dem Pilze selbst gebildete **Stoffwechselprodukte** in derselben Weise wirken können. Schon RAULIN (1) hatte gefunden, daß bei aufeinanderfolgenden Züchtungen auf ein und derselben Lösung oft 5 die erste Ernte nicht die größte ist; in einem Falle betrug sie 4,9 g, während die zweite 8,6 g, und die dritte 5,8 g ausmachte. NIKITINSKY (1) konnte dies bestätigen; er erhielt, und zwar ebenfalls von *Aspergillus niger*, aufeinanderfolgende Ernten von 1,8 g, 3,2 g, 3,1 g. Diese Steigerung tritt dann noch klarer zutage, wenn nach jeder Ernte die verbrauchten 10 Stoffe der Nährlösung wieder ersetzt und auch dafür gesorgt wird, daß eine bei der vorhergegangenen Entwicklung etwa eingetretene Säuerung oder Alkaleszenz vor der Wiederbeimpfung wieder behoben wird. Weil dieser Forscher überzeugend dartun konnte, daß der Pilz keine Stickstoff- oder Kohlenstoffquellen in die Nährlösung ausschied, auf deren 15 Rechnung dieses Ergebnis zu setzen wäre, und daß auch Konzentrationsänderungen (s. oben S. 332) u. dgl. nicht in Betracht kommen können, muß angenommen werden, daß irgendwelche Stoffwechselprodukte unbekannter Natur in die Lösung ausgeschieden werden, und nun als Reizmittel sich betätigen. Diese Förderung durch Stoffwechselprodukte zeigte sich am 20 ausgesprochensten bei Verwendung von Salmiak, weniger von Ammoniumnitrat, Asparagin oder Pepton als Stickstoffnahrung. Die Bedeutsamkeit dieser Beobachtungen für die Lehre von der Metabiose in der Natur wird im 20. Kapitel dieses Bandes noch zu würdigen sein. Hier hingegen soll nur darauf hingewiesen werden, daß wir in dieser Wirkungs- 25 weise eine bemerkenswerte Analogie zu autokatalytischen Vorgängen der allgemeinen Chemie vor uns haben, d. h. zu solchen Vorgängen, bei denen durch die Reaktion selbst erst der Stoff geschaffen wird, der weiterhin beschleunigend wirkt. Die Abscheidung schädlicher Stoffwechselprodukte, abgesehen von Säuerung bzw. Alkalisierung der Nähr- 30 lösung, konnte NIKITINSKY nur in dem einem Falle beobachten, wenn Glycoside als Kohlenstoffquelle dienten. Welcherlei hemmende flüchtige Produkte es gewesen sind, die nach LESAGE's (1) Angaben Agar, auf welchem die Konidien von *Penicillium* gekeimt hatten, für spätere Generationen so lange untauglich machten, als sie sich nicht verflüchtigt 35 hatten, bleibt noch zu erforschen übrig.

In betreff der **Hefen** fand H. SCHULZ (1), daß man durch Zusatz von Sublimat, Jod, Jodkalium, Chromsäure, Salicylsäure oder Ameisensäure in geringer Konzentration fördernde Reizwirkungen bei „Bäckerhefe" erzielen kann. Setzte er z. B. 1 : 500.000 Sublimat zu, so stieg 40 dadurch die Gärung mäßig, um bald wieder auf normale Stärke herabzusinken. Ein größerer Zusatz förderte zwar die Gärung zunächst mehr; sie ging jedoch dann bald unter das Normalmaß hinab. Näheres darüber, insbesondere auch über den Einfluß von Kupfersalzen, ist im 6. Kapitel des IV. Bandes zu finden. Daß auch bei Hefen, wie bei 45 *Aspergillus*, eigene Stoffwechselprodukte fördernd wirken können, zeigte THIBAUT (1); Zusatz von eigenen und auch von fremden Gärungsprodukten bewirkte sowohl Erhöhung der Vermehrungsgeschwindigkeit als auch Hinausschiebung der Vermehrungsgrenze der Hefezellen.

Um schließlich auch aus dem Reiche der **Bakterien** ein Beispiel 50 hier beizubringen, verweisen wir auf die Arbeit von RICHET (1) über Milchsäuregärung. Alle Gifte, die untersucht wurden, zeigten je nach der verwendeten Konzentration eine wirkungslose, oder eine fördernde, oder eine hemmende, oder eine verhindernde Wirkung auf die Gärtätig-

keit von Milchsäurebakterien, welche in caseinfreier Milch der Wirkung dieser Gifte ausgesetzt wurden. Wirkungslos war z. B. beim Sublimat oder Kupfersulfat 0,25 mg pro Liter, beschleunigend 0,5 mg, hemmend 1 mg. Andere Salze wirkten schwächer. Genaueres darüber ist im Vierten Abschnitte des II. Bandes dieses Handbuches zu finden. — In- 5 wieweit der „zwar unnötige, aber beliebte“ (A. FISCHER [2]) Zusatz von Kochsalz zur Nährgelatine u. dgl. ein chemisches oder ein osmotisches Reizmittel vorstellt, bleibt noch zu untersuchen übrig.

Was die Beeinflussung von einzelnen Lebensbetätigungen betrifft, so ist oben (§ 73) schon erwähnt worden, daß zufolge KOSIŃSKI (1) die 10 Atmung der Schimmelpilze durch Reizstoffe erhöht wird. Ferner zeigte ONO (1), daß die Oxalsäureansammlung verringert wird, was dafür spricht, daß die Atmung auch eine vollständigere ist. Zu anderen Ergebnissen bei Züchtungen unter Luftabschluß ist allerdings KOSTYTSCHEW (1) gelangt; weil aber wahrscheinlich die Dauer des Züchtens und die Be- 15 schaffenheit der Nährlösung eine große Rolle spielt, ist die Frage noch genauer zu untersuchen. ONO (1) zeigte ferner, daß bei Zusatz von Reizmitteln der Pilz ökonomischer arbeitet, d. h. zur Bildung einer bestimmten Pilzmenge weniger organische Nahrung verbraucht. Daß durch solche Stoffe die Formgestaltung oft anomal wird, ist oben 20 schon gesagt worden; die Pilzdecken werden fester, aber die Fruktifikation leidet. RICHARDS drückte dies treffend so aus, daß er sagt, das (am Trockengewicht bemessene) physiologische Optimum ist keineswegs immer das biologische Optimum. Und man darf wohl mit LAFAR (4) die unter dem Einfluß von Zinksulfat erfolgende 25 anomale Ausbildung als Mästung des Pilzes bezeichnen. Uebrigens kann die Entwicklung auch durchaus normal verlaufen, und zwar ist das z. B. nach NIKITINSKY bei der Förderung durch selbstgebildete Stoffwechselprodukte der Fall. Eine Vergleichung der chemischen Zusammensetzung von Pilzen, die mit, und solchen, die ohne Reizmittel herange- 30 züchtet wurden, wäre wohl sehr lehrreich, kann aber nicht angestellt werden, weil so gut wie keinerlei Untersuchungen darüber vorliegen. Einige Bemerkungen über den Stickstoffgehalt „gereizter“ Pilze scheint, soweit aus dem Referate zu ersehen ist, KANTER zu geben. Was die Beeinflussung der Farbstoffbildung bei Bakterien anbetrifft, so kann auch 35 sie durch Gifte, die in geringer Menge als Reizstoffe wirken, gesteigert werden: Nach VON KUESTER (1) wird durch kleine Gaben von Phenol, essigsaurer Tonerde, Borsäure oder Aethylalkohol dieses Ziel erreicht; größere Gaben hemmen die Farbstoffbildung schon, bevor noch das Wachstum erlischt, noch größere verhindern dann auch diese. Die Grenzwerte 40 verschieben sich übrigens mit der Art der Ernährung; bei Züchtung in Bouillon liegen sie höher als bei Züchtung auf Agar.

§ 78. Beeinflussung der Gestaltung durch die Ernährungsweise.

Bau und Entwicklungsgang einer Art, die wir mit KLEBS (6) als Ausfluß der „specifischen Structur“ ihres Protoplasmas bezeichnen dürfen, 45 können mit den äußeren und inneren Lebensbedingungen bekanntlich innerhalb engerer oder weiterer Grenzen variieren; und soweit diese Variationen von den äußeren Bedingungen der Ernährung abhängen, sollen sie in diesem Paragraphen behandelt werden. Um die Darstellung dieses ungeheuren, hauptsächlich durch die Bemühungen von KLEBS 5

erschlossenen Gebietes, einigermaßen übersichtlich zu gestalten, sollen zunächst die Formwechselerscheinungen der vegetativen und dann die der reproduktiven Sphäre behandelt werden; innerhalb beider zuerst die Eumyceten exkl. Saccharomyceten, dann die Saccharomyceten nnd andere Hefen, endlich die Bakterien.

Im Bereich der vegetativen Sphäre der Schimmelpilze ist zunächst an einige beachtenswerte, durch Ernährungsverhältnisse bedingte Differenzierungen des sonst gleichartigen Mycels in mehrere funktionell und gestaltlich gesonderte Teile zu erinnern. So beobachtete Schmidt (1), daß mit Oel gefütterte Schimmelpilze zweierlei Hyphenarten bilden; die einen dringen in die Oeltropfen ein, um Säure und Glycerin aufzunehmen, die anderen hängen senkrecht in die Nährlösung herab und versorgen den Pilz mit Nährsalzen.

Züchtet man Mucoreen auf festen Substraten, so kann man, wie neuerdings Falck (1) besonders genau beschreibt, zweierlei Hyphenarten unterscheiden: einmal die über die Oberfläche dahin wachsenden, Terrain erobernden, ferner die ins Substrat eindringenden, ernährenden, eine Arbeitsteilung, die bei *Rhizopus nigricans* in ähnlicher Weise mehr oder minder erblich festgelegt ist. Auch die chemische Qualität des Substrates kann die Ausbildung der Mucormycelien beeinflussen: Bachmann (1) wies für *Thamnidium*, Klebs (1) für *Mucor racemosus* nach, daß bei starker Kohlenhydratzufuhr dicke Haupthyphen mit stumpfen Seitenästen, gefüllt mit feinkörnigem, bräunlichem Protoplasma, gebildet werden, bei übermäßiger Stickstoffzufuhr (Pepton, Asparagin, Harnstoff) dünne Haupthyphen mit spitzen Seitenästen und vacuoligem, lichtbrechendem, farblosem Inhalte in die Erscheinung treten. Besonders bekannt seit langer Zeit und zumal von Klebs (1) eingehend beschrieben, ist die eigenartige Umbildung des gärenden Mucormycels (*M. racemosus*) von welcher das 22. Kapitel des IV. Bandes handelt. Ueber den formativen Effekt der Sauerstoffentziehung berichtet P. Lindner (3) für *Monilia variabilis*. Die anaerobe Vegetation besteht großenteils aus sprossenden Zellen, zum kleinen Teil aus Oidien und gemmentragenden Fäden.

Weitere Einzelangaben über formative Einflüsse der Ernährung sind folgende. Nach Laurent (1) bildet *Cladosporium herbarum* in schlechten Nährlösungen Zellfäden, in guten hingegen sprossende Zellen. Nach Weidenbaum (1) entwickelt sich *Oidium albicans* ohne Zuckerzufuhr zu einem wolkigen, aus Fäden gebildeten, bei Zuckerzufuhr zu einem pulvrigen, aus sprossenden Zellen gebildeten Bodensatz. Nach Raciborski (1) bildet *Basidiobolus ranarum* abnorm lange, dünne Zellen, wenn er an Kohlenstoffhunger leidet, z. B. mit Aminosäuren als alleiniger Kohlenstoff- und Stickstoffquelle gezüchtet wird. *Aspergillus pseudoclavatus* bildet nach Puriewitsch (3) in 50-proz. Rohrzuckerlösungen dickwandige, perlschnurartig aneinander gereihte Zellen. Nach Ternetz (1) zeigt *Ascophanus* infolge Säuerung der Nährlösung ein gemmenartiges Mycel. Ueber die formativen Erfolge, welche die Zufuhr verschiedener Zuckerarten an *Penicillium Duclauxii* auslöst (keulige Anschwellungen des Mycels etc.), vergleiche man Bourquelot und Graziani (1).

Ueber das Basidiomycetenmycel verdanken wir Falck (2) einige neuere Angaben, die schon im § 77 kurz gestreift wurden. Die Oidien holzbewohnender Pilze bilden, in Nährlösungen ausgesäet, zunächst wieder ausschließlich Oidien, um erst mit Erschöpfung der Nährlösung ein Mycel mit wenig Oidien zu bilden. Bei Darbietung fester Kohlenhydrate

wachsen die Oidien sofort zu schnallenbildendem Basidienmycel aus. Die Bedeutung der Kopulation der Brandpilzsporidien, die nach Brefeld auf erschöpften Nährlösungen eintritt und kein Geschlechtsakt sein soll, ist noch aufzuklären (s. Jahn [1]).

Ueber Versuche, Beziehungen zwischen der Molekulargröße eines Körpers und seiner formativen Wirkung zu konstruieren, vergleiche man die Arbeit von Linossier und Roux (1), die fanden, daß der Soorpilz zu um so längeren Fäden auswächst, je größer das Molekulargewicht des als Nahrung verwendeten Zuckers ist.

Noch ist darauf hinzuweisen, daß oft auch der makroskopische Anblick einen Rückschluß auf die Ernährung erlaubt. So wußte schon Nägeli, daß häufig Schimmelpilze (*Penicillium*) bei guter Ernährung Decken bilden, bei schlechter, etwa bei Stickstoffmangel, submers wachsen. Interessante spezifische Differenzen bieten zwei von Wehmer (9) untersuchte Pilze des javanischen Ragi: *Mucor javanicus* bildet bei Zufuhr von Rohr- und Traubenzucker, nicht von Milchzucker Decken; *Mucor Rouxii* bildet auch bei Ernährung mit den zwei erstgenannten Zuckerarten keine Decken, wohl aber auf Lösungen von Malzzucker und Inulin. Nach Molisch (2) bildet der Hallimasch dann Rhizomorphen, wenn das Mycel aus der Nährflüssigkeit an die Luft gelangt.

Ueber die **Beeinflussung** der **Gestalt** der **Hefenzellen** durch bestimmte Ernährung verdankt man Kossowicz (1) einige Angaben. In der Wildiers'schen Nährlösung zeigen Zellen von *Saccharomyces ellipsoideus I*, zumal wenn sie in geringer Menge eingesäet werden, birnförmige, an *S. Ludwigii* erinnernde oder citronenförmige Gestalten, auch hantelförmig miteinander verbundene Involutionsformen.

Was im übrigen die Abhängigkeit der Gestalt der Hefenzellen von äußeren Verhältnissen angeht, so spielt, wenigstens nach den meisten vorliegenden Arbeiten, soweit ich mir ein Urteil erlauben kann, die Temperatur eine so ausschlaggebende Rolle, daß chemische Einflüsse mehr oder minder zurücktreten dürften; vgl. auch S. 173. Es wird bei hierauf bezüglichen Untersuchungen immer wohl zu beachten sein, daß ohne äußere Beeinflussung ein und dieselbe Hefe auf derselben Würzegelatine in verschiedenen Formen auftreten kann, z. B. nach den bekannten Untersuchungen E. Chr. Hansen's die *Carlsberg-Unterhefe Nr. 1*, wurstförmig oder oval. Der makroskopische Anblick einer Hefenkultur ist auch nicht allein auf Rechnung äußerer Verhältnisse, sondern z. T. auch spezifischer Differenzen zu setzen; bekanntlich wird bei den einen Hefen erst dann Hautbildung sichtbar, wenn die Gärung vorbei ist, d. h. infolge chemischer Veränderung des Substrates, während andere sofort zu Beginn der Kultur zur Hautbildung schreiten. Zwei von Wehmer (11) beschriebene Kahmhefen bilden Decken auf gewissen, freie Milchsäure enthaltenden Flüssigkeiten, sonst, z. B. in Bierwürze, einen Bodensatz. Hier darf auch daran erinnert werden, daß den asporogenen Hefen die Fähigkeit zur Hautbildung abgeht. Wegen aller weiterer Einzelheiten sei auf die Darstellung im 1. und 8. Kapitel des IV. Bandes verwiesen.

Betreffs der außerordentlich reichhaltigen Literaturangaben über Abhängigkeit der **Bakterienzellform** von den Ernährungsbedin soll hier die Heranziehung einer kleinen Anzahl von Beispielen i im übrigen darf auf die Darlegungen der §§ 10, 11 u. 21 rücl werden. Häufig dürfte es ein Mißverhältnis zwischen kohle stickstoffhaltiger Nahrung sein, welches eigenartige Gestaltu

So findet ALFR. FISCHER (1), daß *Bac. subtilis* unter solchen Ernährungsbedingungen involviert. Auf ein ähnliches Mißverhältnis ist es wohl zu schieben, daß der von LINDNER (1) entdeckte *Pediococcus cerevisiae* zu großen, hefenähnlichen Zellen heranwächst, wenn er auf Kartoffeln gezüchtet wird. Bei *Bact. Pasteurianum* und *Bact. aceti* fand LAFAR (2) eine mit der chemischen Veränderung des Substrates einhergehende Veränderung der Zellform: Beim Maximum der Säuerung traten Kurzstäbchen auf, später Zerrgestalten. Während hier die Bildung von Kurzstäbchen das Maximum des Wachstums bezeichnet, gilt umgekehrt für die von E. CHR. HANSEN entdeckte, durch hohe Temperatur ausgelöste Umformung der Essigbakterien (vgl. § 97), daß die sehr langen und großen, blasig aufschwellenden Formen die kräftigst wachsenden sind. Ueber formative Veränderungen, welche anorganische und organische Säuren an Essigbakterien verursachen, vergleiche man auch die Arbeit von HOYER (1).

Sind die bisher genannten Umformungen wesentlich pathologischer Natur, so gilt das nicht von den folgenden: Nach PROVE (1) wächst *Micrococcus ochroleucus* in Kettenform bei reichlicher Stickstoffzufuhr, in Einzelkokkenform bei reichlicher Kohlenhydratzufuhr. Nebenbei sei bemerkt, daß dieser Kokkus, und ebenso auch *Bac. prodigiosus*, bei geringerer Stickstoffzufuhr Minderung der Farbstoffbildung, bei reichlicher Kohlenhydratzufuhr andererseits Steigerung der Schleimbildung zeigt. Nach BOEKHOUT und OTT DE VRIES (1) wächst *Bac. fuchsinus*, der normalerweise ein kurzes Stäbchen darstellt, zu langen, mit Eigenbewegung begabten Stäbchen aus, wenn die allmählich eintretende Säuerung des Substrates nicht neutralisiert wird. — Bekannt ist, daß die Ernährung häufig von Einfluß auf die Hüllenbildung ist. Nach LIESENBERG und ZOPF (1) bildet *Leuconostoc mesenterioides* auf Pepton mit Saccharose oder Traubenzucker, (nicht Maltose, Glycerin, Milchzucker) und Nährsalzen dicke Gallerthüllen, nicht aber auf Kartoffeln. Pepton und Nährsalzen ohne Zucker, Fleischwasserpeptongelatine; hier tritt er vielmehr als hüllenlose Varietät (*var. nuda*) auf. Ueber den Einfluß einzelner Salze vergleiche man § 82 und 83 des folgenden Kapitels. Die Bakteroidenbildung der Knöllchenbakterien wird im Bd. III, S. 52 behandelt. Ueber formative Veränderungen als Folge der Einwirkung verschiedener Pilze aufeinander vgl. man das 20. Kapitel des vorliegenden Bandes.

Der **reproduktiven Sphäre,** zunächst der **Schimmelpilze,** wenden wir uns nun zu. Gelangen Fadenpilze unter ungünstige Ernährungsbedingungen, so zergliedern sie sich nicht selten in ihre einzelnen Zellen. Dies wiesen z. B. BREFELD (2) für *Conidiobolus* und WINOGRADSKY (1) für *Beggiatoa* nach. Sobald sich nachweisen läßt, daß hier ein regulatorischer Vorgang vorliegt, der darauf abzielt, die einzelnen Glieder zu zerstreuen und in bessere Lebensbedingungen zu bringen, dürfen wir in solchen Erscheinungen Uebergänge zu den eigentlichen Fortpflanzungsvorgängen betrachten, welche wir mit KLEBS (4) dahin definieren, daß besonders geformte Zellen oder Zellkomplexe gebildet werden, die der Verbreitung oder Erhaltung der Art dienen. Wenn wir diese Fortpflanzungsvorgänge, trotzdem sie durch mannigfache Uebergänge mit den vegetativen verbunden sind, hier von den letzteren gesondert betrachten, so leitet sich die Berechtigung dafür daraus ab, daß wir die Abhängigkeit der Fortpflanzungserscheinungen von den Lebensbedingungen leichter in allgemeine Regeln fassen können als die der vegetativen Wachstumsvorgänge, Regeln, die wir wesentlich im Anschluß an KLEBS' Arbeiten nun zu besprechen haben.

Es empfiehlt sich hierbei, daß wir die verschiedenen Faktoren der Außenwelt, die für unsere Darstellung in Betracht kommen, jeweils unter zwei verschiedenen Gesichtspunkten betrachten; einmal als formale Bedingungen, zum anderen Mal als auslösende Reize. Im ersten Fall fragen wir, ob das Vorhandensein des betreffenden Faktors für die Fortpflanzung nötig, nützlich oder schädlich ist, ob ferner das reproduktive Leben andere, größere oder geringere Ansprüche an den betreffenden Faktor stellt als das vegetative. Im zweiten Falle wird gefragt, ob eine Veränderung der äußeren Faktoren die Fortpflanzung auszulösen in der Lage ist. Wenn wir versucht haben werden, diese Fragen im allgemeinen zu beantworten, werden wir uns dann noch den verschiedenen Fortpflanzungsorganen ein und desselben Pilzes zuzuwenden haben, um zu untersuchen, inwieweit es gelungen ist, die Bedingungen für ihr Zustandekommen zu ermitteln, ihr Auftreten künstlich hervorzurufen, ihre Aufeinanderfolge beliebig zu verändern.

Ganz allgemein gilt nach KLEBS (4), daß die Grenzen innerhalb deren Fortpflanzung stattfinden kann, viel enger gezogen sind als die, innerhalb deren sich das vegetative Leben abspielt. Wir betrachten zunächst die Beziehung der Fortpflanzung zum Wasser, um sofort einen Spezialfall dieser Regel zu erkennen. In vielen Fällen kann das Mycel sowohl über als unter Wasser leben, während die Fortpflanzungsorgane nur in dem einen der beiden Medien gebildet werden. Für *Sporodinia* gibt KLEBS (2) an, daß die Sporangien und Zygoten immer nur an der Luft gebildet werden. Ebenso findet E. CHR. HANSEN (8), daß *Mucor alpinus*, *M. neglectus* und *M. racemosus* Sporangien und Zygoten nur an der Luft (Gemmen auch im Wasser) hervorbringen. SCHOSTAKOWITSCH (1) gibt an, daß die Konidien von *Hormodendron* und *Cladosporium* nie untergetaucht gebildet werden, wohl aber die von *Fumago*, jedoch nur dann wenn Zucker in der Nährlösung vorhanden ist. Für viele deckenbildende Pilze ist es ferner jedem Mykologen bekannt, daß normale Konidienträger nur an der Luft entstehen können. Umgekehrt gibt es Fälle, bei welchen die Fortpflanzungsorgane nur in der Nährlösung entstehen; so nach KLEBS (3) die von *Saprolegnia*, bei welchem Pilze das Mycel auch an der Luft wachsen kann. Nach KLÖCKER (3) bilden sich die Konidien von *Gymnoascus flavus* immer submers. Ascosporen dieses Pilzes bilden infolge davon Konidien, wenn sie auf Wasser oder dünne Würze, nie aber, wenn sie auf feste Substrate ausgesäet werden. Nach FALCK (2) bilden sich auch die Oidien von *Phlebia merismoides* nur unterhalb des Niveaus der Nährlösung. Betrachteten wir in diesen Beispielen Gegenwart von Wasser oder Luft als formale Bedingung, so können wir andererseits auch die auslösende Reizwirkung der Aenderung des Mediums in jeder Kultur etwa eines *Mucor*, der sein Mycel über die Oberfläche der Nährlösung hinaufschickt und zur Sporangienbildung schreitet, sehen und jederzeit künstlich hervorrufen; nach RACIBORSKI (1) genügt es, ein von altem *Saprolegnia*-Mycel durchwachsenes Stück Gelatine in Wasser zu werfen, um die Bildung von Fruktifikationsorganen zu erzielen.

Einen weiteren Einzelfall der Regel, daß die Grenzen für die Fortpflanzung engere sind als für das Wachstum, zeigt uns der Bed[illegible] an Sauerstoff. Hierfür einige Beispiele: KLEBS (3 u. 4) [illegible] daß die Sporangienbildung von *Saprolegnia* an etwas hö[illegible] druck des Sauerstoffes gebunden ist als das Wachstum, [illegible] bei 3—5 mm Druck zwar noch wächst, aber nicht [illegible] Während *Mucor racemosus* bei Sauerstoffausschluß

septierten Mycels steril wächst, werden Gemmen zwar noch bei niederem Sauerstoffdruck, aber nicht mehr im sauerstofffreien Raum gebildet. Andererseits ist auch die Auslösung der Fortpflanzung durch Sinken des Sauerstoffgehaltes für bestimmte Fälle denkbar. Zwar hat
5 KLEBS (4) eine Anzahl dahin zielender Angaben, z. B. die von DE BARY, daß die Zygoten von *Rhizopus*, und von VAN TIEGHEM, daß die Zygoten anderer Mucoreen bei eintretendem Sauerstoffmangel gebildet würden, als nicht hinreichend begründet erwiesen. Doch bewirkt nach INUI (1) Sauerstoffhunger die Konidienbildung einer im Awamori-Koji sich finden-
10 den *Monilia*. Ob bei *Amblyosporium umbellatum* Sauerstoffmangel oder gehemmte Transpiration die Sklerotienbildung bewirkt, ist noch unentschieden. (Ueber die Transpiration als auslösenden Faktor vergleiche man das 16. Kapitel.)

Auch für Mittel, die man als Gifte zusammenfassen kann, liegt
15 häufig das Maximum der Fruktifikation tiefer als das der Vegetation. Jeder, der die gewöhnlichen Schimmelpilze einmal gezüchtet hat, weiß, daß man sie durch Säuerung ihres Nährbodens in der Konidienbildung hemmen kann, ohne ihr Wachstum zunächst zu schädigen. Genauere Angaben verdanken wir WEHMER (4), der angibt, daß sowohl anorganische als
20 auch organische Säuren in dieser Richtung wirken. MALFITANO (1) nimmt an, daß hierbei auch die durch die Säure bewirkte Hemmung der Wirksamkeit proteolytischer Enzyme eine Rolle spiele. Umgekehrt kann auch durch Säuren, sobald sie nicht die hindernde Dosis erreichen, Fruktifikation ausgelöst werden, so z. B. bei *Ascophanus* nach TERNETZ (1)
25 die Bildung von Gemmen. Genaueres über die Wirkung von Wasserstoff- und Hydroxyl-Ionen findet man bei KLEBS (4). Ueber die fortpflanzungsbehindernde Wirkung von Reizstoffen (Zink) ist oben (§ 77) schon das Nötigste gesagt worden; hier genüge noch, zu bemerken, daß nach WEHMER (4) bei *Citromyces glaber* Kupfersulfatzusatz die Konidien-
30 bildung hemmt, und daß nach FERNBACH (1) sulfocyansaures Ammon dieselbe Wirkung solange an *Aspergillus niger* ausübt, bis dieser Pilz dasselbe durch Oxydation entfernt hat. Ueber die Hemmung der Sporangienbildung der *Saprolegnia* durch Gifte vgl. man KLEBS (3). Bemerkenswert ist auch die Nachwirkung, welche schädliche Einflüsse haben können.
35 Hält man die Konidien von *Citromyces* einige Tage unter einer Kohlensäureatmosphäre, um sie dann nach Verdrängung der Kohlensäure zu einer Decke auswachsen zu lassen, so bleibt diese, wie WEHMER (4) fand, dauernd steril; ob hier eine Nachwirkung der Kohlensäure oder des Sauerstoffmangels vorliegt, ist nicht entschieden.

40 Wir kommen zu dem wichtigsten Faktor, den Ernährungsverhältnissen im engeren Sinne, um auch hier zu konstatieren, daß häufig die Fruktifikation größere Ansprüche stellt als das sterile Wachstum. In den ersten Paragraphen des folgenden Kapitels werden wir noch eingehender davon zu sprechen haben, daß nicht selten infolge von Mangel
45 an Kalium, Magnesium usw. die Fruktifikation ausbleiben kann. Ferner berichtet z. B. SCHOSTAKOWITSCH (1), daß *Fumago vagans*, auf Pepton gezüchtet, nur sterile Konidienträger bildet, wenn nicht außer den im Pepton vorhandenen Salzen noch Salze des Kaliums, Magnesiums und Phosphors dargeboten werden, während bei Entzug von Schwefel und
50 Calcium wenigstens die Ausbildung einzelner gestielter Konidienträger und Konidienbüschel mit Konidien möglich ist.

Einige weitere Fälle anomaler Ausbildung der Fortpflanzungsorgane sind die folgenden: P. LINDNER (1) berichtet über Durchwachsungs-

bildungen an Pilzmycelien (*Epicoccum purpurascens*, *Alternaria sp.*, *Botrytis cinerea*; s. S. 170). Später beschrieben Klöcker und Schiönning (1) einen auf unrichtiger Ernährung beruhenden eigenartigen Durchwachsungsvorgang, der zur Bildung anomaler Konidienträger bei *Dematium* führt. Schostakowitsch (3) beschreibt eine sonderbare Anomalie, 5 Viviparie innerhalb des Sporangiums, bei *Mucor prolifer*, die durch Glycerinzusatz zur Nährlösung ausgelöst werden kann. Noch eine Unmenge anderer Beispiele könnte leicht angeführt werden. Hier sei nur noch daran erinnert, daß infolge schlechter Ernährung, z. B. infolge von Stickstoffmangel, die Konidienträger von *Penicillium* u. a. submers und 10 dann oft mehr oder minder rudimentär ausgebildet werden, unter Umständen auf eine einzige sich abschnürende Konidie reduziert werden können. Bei voluminösen Fortpflanzungsorganen sind natürlich auch die Ansprüche an Wasserzufuhr groß, und Falck (2) beschreibt neuerdings sehr anschaulich Vorrichtungen, die er traf, um die für die Ausbildung 15 von Basidiomycetenhüten nötige Wasserzufuhr zu gewährleisten.

Häufiger untersucht als die Fälle, in denen Anwesenheit von Nahrungsstoffen als formale Bedingung für die Fortpflanzung erscheint, sind diejenigen, in welchen ganzer oder teilweiser Nahrungsentzug, allgemeiner gesagt, Veränderung der Nahrung, welche vegetatives Wachs- 20 tum ermöglichte, die Bildung von Fortpflanzungsorganen auslöst. In solchen Vorgängen spiegelt sich das Erhaltungsmäßige in den Reaktionen der lebenden Substanz trefflich wieder. Ob die Nahrungsveränderung in einem vollständigen oder teilweisen Entzug zu bestehen hat, ob diese Veränderung langsam oder schnell erfolgen muß, welche 25 Nährstoffe entzogen werden müssen, darüber entscheiden spezifische Eigenschaften des Versuchspilzes. In den meisten Fällen muß eine kräftige Ernährung vorhergegangen sein, um die nachherige normale Ausbildung der Fortpflanzungsorgane zu ermöglichen. Dies gilt zumal für die Fälle vollkommenen Nahrungsentzuges, in welchen man durch 30 Uebertragen der Versuchsobjekte aus der Nährlösung in Wasser die Fruktifikation auslöst. Ein interessantes Beispiel dafür, daß Nahrungsentzug zwar auslösend wirkt, aber doch nicht vollständiger Entzug stattfinden darf, gibt Klebs (4) für die Bildung der Hüte von *Coprinus* an; Nahrungsverminderung und -Veränderung löst zwar deren Bildung aus, 35 doch muß bis kurz vor der Streckung des Stieles immer noch für eine gewisse Ernährung Sorge getragen werden, wenn nicht statt der Hüte Hemmungsbildungen, Sklerotien, erscheinen sollen.

Wir nennen nun einige weitere Beispiele für den Nahrungsentzug als auslösenden Reiz. Reess (1) konstatierte, daß die Gemmen an *Mucor*- 40 Mycelien bei schlechter Ernährung schon früher als die Sporangien entstehen. Klebs (1) untersuchte die Abhängigkeit der Gemmenbildung von der Ernährung genauer, um zu finden, daß sowohl Mangel an organischer als anorganischer Nahrung ihre Bildung auslösen kann. In Lösungen von Pepton bilden sich bei Zimmertemperatur keine Gemmen, 45 wohl aber bei erhöhter Temperatur, während bei Zimmertemperatur der Zusatz von Zucker, Salzen, Citronensäure nötig ist. Nach Klebs (4) bildet ferner *Ascoidea rubescens* Früchte nach Uebertragung aus Pflaumensaft in Wasser, *Pestalozzia truncatula* Pykniden unter denselben Bedingungen. Wehmer (6) fand, daß Nahrungsentzug maßgebend ist für die Auslösung 50 der Fortpflanzung des *Penicillium luteum*, Ternetz (1) für die Fruchtbildung von *Ascophanus carneus*. Nach Raciborski (1) bildet *Basidiobolus ranarum* Zygoten in dem Zeitpunkt, in welchem die Nährlösung (Pepton

mit Nährsalzen) ihrer Erschöpfung an Kohlenstoff- und Stickstoffnahrung entgegengeht. Auch Asparagin als einzige Kohlenstoff- und Stickstoffquelle geboten, verhindert üppiges Wachstum und fördert dadurch die Fruchtbildung bei demselben Pilz, ebenso Zufuhr von Stickstoff als Nitrat, d. h. 5 in unzulänglicher Bindungsform. Werner (1) fand, daß *Nectria* Konidien in Sproßform bei großem Nahrungsmangel, zumal Mangel an Kohlenstoffquelle, bildet, Flüssigkeitskonidien hingegen bei großem Wasserreichtum des Substrates, wenn einem gut ernährten Mycel plötzlich die Nahrung entzogen wird. Starke Salzlösungen hemmen die Bildung von Flüssig- 10 keitskonidien. Nach demselben Forscher bewirkt Kombination von Nahrungsmangel und Transpiration die Bildung einfacher, Kombination von Transpiration und normaler Ernährung die Bildung von normalen Konidienträgern. Nach E. Chr. Hansen (2) bildet *Anixiopsis stercoraria*, welche Form auf nahrungsreichem Boden hauptsächlich Mycel, weniger 15 Brutzellen, hervorbringt, auf magerem Boden Brutzellen (Oidienketten) und Perithecien. Wenn neuerdings Iterson (1) fand, daß viele Schimmelpilze, auf Cellulose gezüchtet, ihre Pykniden und Perithecien bilden, so wird der Verdacht gerechtfertigt sein, daß ungünstige Ernährung hierbei mitspielt. In allen diesen Fällen ist die Kausalverkettung so zu denken, 20 daß die Nahrungsänderung zunächst das vegetative Wachstum stört und sich dadurch eine innere Reizkette bildet, die bei der Entstehung und Ausbildung von Fortpflanzungsorganen endet.

Diese große Bedeutung der Nahrungsänderung drängt uns die Frage auf, ob denn überhaupt ganz ohne Veränderung der äußeren Bedingungen 25 Fortpflanzung denkbar ist, und diese Frage ist mindestens für gewisse Fälle wohl zu bejahen. Es liegt gar kein Grund vor, an der Möglichkeit zu zweifeln, daß eine Pilz-Konidie, auf Nährlösung ausgesäet, ihren Keimschlauch treibt, dieser sich verzweigt, und dass dann aus den in einiger Entfernung von den fortwachsenden Spitzen befindlichen Zellen seitlich 30 Konidienträger auswachsen, ohne daß irgend eine Aenderung in den Außenbedingungen seit Beginn des Versuches erfolgt wäre. Eine Abhängigkeit von den Außenbedingungen besteht aber natürlich immer und in jedem Falle; bei anderer Ernährung z. B. würde der Konidienträger sich früher, später oder in anderer Form gebildet haben.

35 Auch das **Auftreten der verschiedenen Fortpflanzungsweisen** eines und desselben Pilzes steht in strenger Abhängigkeit von der jeweiligen Lebenslage. Dies sei zunächst an der von Klebs (3) studierten *Saprolegnia mixta* erläutert: Während dieser Pilz bei gleichmäßiger Zufuhr von Nahrung dauernd vegetativ weiter wächst, bilden 40 sich Sporangien nach Uebertragung in reines Wasser, oder auch wenn die Hyphenspitzen eines in verdünnter Nährlösung wachsenden Mycels in nahrungsarme Zonen gelangen. Oogonien andererseits treten dann auf, wenn gut ernährtes Mycel in seiner ganzen Erstreckung an erschwerter Nahrungsaufnahme zu leiden beginnt und die Bedingungen 45 für die Sporangienbildung nicht günstig sind, etwa die Konzentration zu hoch ist (s. § 77). Gemmenbildung schließlich wird als ultima ratio des Pilzes dann ausgelöst, wenn ebenfalls Nahrungsmangel das vegetative Weiterwachsen verhindert, aber die Lebenslage weder die Bildung von Oogonien noch von Sporangien erlaubt, z. B. die Ernährung vorher 50 sehr minderwertig war, oder die Konzentration eine für beide Prozesse zu hohe ist. Auch die Kenntnis der Bedingungen für die Bildung von Sporangien einerseits und von Zygoten andererseits bei *Sporodinia* verdankt man Klebs (2 u. 5). Nachdem oben schon (S. 185 u. 335) ausgeführt

wurde, daß die Zygoten bei höherer Konzentration der Nährlösung entstehen, ist hier in chemischer Hinsicht zu erwähnen, daß die Zygoten insofern anspruchsvoller als die Sporangien sind, als ihre Bildung die Anwesenheit bestimmter Kohlenhydrate erheischt, z. B. Traubenzucker oder auch höherer Alkohole, Dulcit, oder sauren äpfelsauren Ammons. 5 Zumal auch Kombination von Rohrzucker und Tartraten ist sehr günstig; Peptongegenwart ist überflüssig, und nur bei Zufuhr von Arabinose erforderlich. Die Sporangienbildung zeigt keine derartigen spezialisierten Ansprüche. Ferner verdanken wir bezügliche Angaben für *Penicillium Wortmanni* den Studien von Klöcker (4): Kultur in dünnen Schichten 10 von verdünnter Würze begünstigt die Bildung von Asken und Kultur auf dicken Schichten von Würzegelatine die Bildung von Konidien; Asken werden andererseits auch auf einer dicken Schicht von Würzegelatine gebildet, allerdings nur langsam und in geringer Menge. Diese Bedingungen wären zweifellos noch weiterer Zergliederung fähig. Da nach 15 Klebs (4) im allgemeinen die unter komplizierteren Wachstumserscheinungen verlaufenden Fortpflanzungsvorgänge auch höhere Ansprüche an die Ernährung als die einfacheren stellen, darf es nicht wundernehmen, daß es Beispiele genug für den Fall gibt, daß zwar die Bildung der letzteren in Nährböden von genau bekannter Zusammensetzung hervorgerufen werden 20 kann, oder doch wenigstens überhaupt in künstlicher Kultur, während die ersteren nur in komplizierten, eventuell organisierten Nährböden oder überhaupt nicht im Experimente, sondern nur am natürlichen Standorte beobachtet worden sind. Hierfür ein paar Beispiele. Werner (1) versuchte vergeblich, die Geschlechtsorgane von *Nectria* in Nährlösungen 25 zu beobachten, die Bedingungen für Bildung der Konidienträger konnten leicht ermittelt werden. Bachmann (1) konnte die Zygotenbildung von *Thamnidium* nicht künstlich hervorrufen, während er ermittelte, daß bei Ueberfütterung mit Stickstoff sich frühzeitig Sporangiolen mit wenigen Sporen, bei Ueberfütterung mit Kohlenhydraten Sporangiolen 30 mit Columella, vielen Sporen und verquellender Membran bilden. Auch die Bedingungen der Zygotenbildung von *Rhizopus nigricans* sind noch nicht ermittelt. Costantin (1) konnte bei *Hypomyces* Bildung von Konidien nicht von Perithecien (oder Chlamydosporen) erzielen. Brefeld (2) züchtete bei *Claviceps*-Kulturen in Nährlösungen ausschließlich Konidien; 35 bei Brandpilzen treten Brandsporen nie in künstlichen Lösungen auf, mit Ausnahme derer von *Tilletia*, bei welcher Form Brefeld sie nach den Konidien an künstlich ernährtem Mycel erscheinen sah. Es darf in diesem Zusammenhange auf einige Fälle hingewiesen werden, in denen zwar die Erzeugung verschiedener Fortpflanzungsorgane derselben 40 Form bei bestimmter Ernährung gelang, aber die genauere Definition der chemisch-physikalischen Bedingungen noch aussteht. In Versuchen von Trow (1) bildete *Pythium* auf Stubenfliegen nur Konidien, auf Kohlblättern Oosporen. Neger (1) fand, daß *Erysiphe* auf jüngeren noch nicht erschöpften Pflanzenteilen Konidien, auf älteren bei genügendem 45 Luftzutritt Perithecien bildet.

Die **spezifischen Differenzen,** welche selbst nahe verwandte Pilze bieten können, treten uns natürlich auch klar entgegen. Es sei auf die Beobachtung Woronin's (1) hingewiesen, daß die an Aepfel angepaßte *Sclerotinia fructigena*, auf verletzte Aepfel ausgesäet, Chlamydosporen- 50 rasen, die in der Natur auf Kirschen wachsende *S. cinerea*, auf Aepfel ausgesäet, hingegen Sklerotien bildet, d. h. trotz gleicher äußerer Bedingungen Organe von sehr verschiedener morphologischer Wertigkeit.

Besonders beachtenswert ist es, daß es bei zwittrigen oder monöcischen Pilzen gelingt, die männlichen und weiblichen Organe in verschiedener Weise durch die chemische Qualität der Ernährung zu beeinflussen. Hier ist es wieder KLEBS (3), dem wir einige bezügliche Angaben über *Saprolegnia mixta* verdanken. Die Bildung von Oogonien wird zwar durch Phosphate gefördert, noch wichtiger aber sind Phosphate für die Antheridienbildung; denn in phosphatarmen Lösungen bilden sich antheridienfreie Oogonien. Auch bestimmte organische Stoffe, Leucin, zumal Hämoglobin, wirken der Antheridienbildung entgegen, so daß z. B. in reinen Hämoglobinlösungen in großer Menge antheridienfreie Oogonien sich bilden; will man trotz Zugabe von Hämoglobin oder Leucin auch Antheridienbildung erzwingen, so muß man reichlich Phosphate zugeben, K_3PO_4 zu Leucin-, Na_2HPO_4 zu Hämoglobinlösungen.

Durch die Tatsache, daß die Fortpflanzungsformen desselben Pilzes an verschiedene äußere Bedingungen gebunden sind, erklärt sich nun auch die Erscheinung, welche die Autoren den „Kampf" zwischen den verschiedenen Fortpflanzungsorganen nennen, daß dieselben nämlich häufig nicht gleichzeitig nebeneinander auftreten. Wenn man sie oft nacheinander auftreten sieht, so erklärt sich das ferner einfach damit, daß im Laufe der Kulturdauer die für die einen Fortpflanzungsweisen günstigen Bedingungen in solche umschlagen, die andere zutage fördern. So ist z. B. die Erscheinung zu deuten, daß die in üblicher Weise auf Fliegenbeinen angesetzten Saprolegnien zuerst Zoosporen, dann Oogonien bilden. Eine inhärente Generationsfolge existiert hier nicht. Ob überhaupt bei Pilzen eine solche ähnlich dem Generationswechsel höherer Pflanzen vorkommt, ist schwer zu sagen; für viele Fälle konnte KLEBS das Gegenteil nachweisen. Andererseits ist natürlich sehr wohl denkbar, daß auch innere Reizverkettungen bestehen können, die bewirken, daß einige Zeit nach Bildung der einen (etwa ungeschlechtlichen) Fortpflanzungsform ohne Wechsel der Außenlage sich die andere (geschlechtliche) bildet. Direkte innere Verkettungen zwischen zwei Fortpflanzungsformen sind zweifellos dann gegeben, wenn die gewaltsame Unterdrückung der einen die Produktion der anderen zur Folge hat. So fand PURIEWITSCH (3), daß bei *Aspergillus pseudoclavatus* nach reichlicher Ernährung das Abschneiden der Konidien die Bildung der Perithecien auslöst. Für *Sporodinia* fand FALCK (1), daß unter Umständen die Unterdrückung von Sporangienanlagen die Produktion von Zygoten nach sich ziehen kann.

Auch sonst gibt es eine große Anzahl von Angaben, die dartun, daß das Ueberwiegen der einen Fortpflanzungsweise über die andere, daß ferner eine gewisse bestimmte Aufeinanderfolge von Fortpflanzungsformen nicht schlechtweg dem Wechsel äußerer Bedingungen parallel geht, vielmehr als spezifisches Merkmal zu bezeichnen ist. Hierher gehören z. B. die folgenden Fälle. Nach HANSEN (2) kann man *Coprinus stercorarius* dadurch von *C. niveus* und *C. Rostrupianus* unterscheiden, daß ersterer fakultativ (nämlich dann, wenn er gut genährt wird) Sklerotienbildung zwischen Spore und Fruchtkörper einschiebt, daß *C. niveus* niemals, daß endlich *C. Rostrupianus* immer zwischen Spore und Fruchtkörper Sklerotien bildet. Nach FALCK (2) ist die mehr oder minder starke Bildung von Oidien ein spezifisches Unterscheidungsmerkmal verschiedener Collybien. Bei *Collybia velutipes* ist sie noch im vollen Gang, wenn der Pilz schon Fruchtkörper bildet, bei anderen nicht. Beachtenswert ist auch, daß, nach HANSEN (8), in Würze, Würzegelatine und Würzeagargelatine *Mucor alpinus* Sporangien vor den Zygoten

bildet, umgekehrt *M. neglectus* Zygoten vor den Sporangien. Es wäre von hohem Interesse, diese Erfahrungen auf möglichst viele, verschiedene Ernährungsbedingungen auszudehnen. Offenbar liegen hier (und diese Beispiele ließen sich vermehren) Erscheinungen vor, die wir als Folge spezifischer Differenzen, der „spezifischen Struktur" nach KLEBS (6), bezeichnen müssen, obwohl sie bei vielen anderen Pilzen als Folgeerscheinungen der inneren und äußeren Lebensbedingungen hingestellt werden können. Und es wird eine lohnende Aufgabe für die Experimentalforschung der Zukunft sein, zu untersuchen, welche dieser Merkmale dem Machtbereich der „spezifischen Struktur" entrissen und in das der äußeren und inneren Lebensbedingungen, deren Variation der Forscher zum großen Teil in der Hand hat, überführt werden können.

Wenden wir uns nun einer kurzen Besprechung der Bedingungen zu, welche für die **Sporenbildung der echten Hefen** in Betracht zu ziehen sind, so werden wir auch hier wieder tunlichst die dafür unerläßlichen formalen Bedingungen von den auslösenden Reizen zu unterscheiden haben. Während bekanntlich die ersteren dank den Untersuchungen E. CHR. HANSEN's (8) ziemlich ausreichend bekannt sind, dürfte die eingehendere Bearbeitung der letzteren auf deren Bedeutung zumal KLEBS (4) hinweist, noch manche interessante Tatsachen zutage fördern. Wir halten uns im folgenden an die Ausführungen von HANSEN. Dieser Forscher konnte, wie allbekannt, ermitteln, daß die Temperaturgrenzen für die Sporenbildung engere sind als für das Wachstum; sie bieten charakteristische Unterscheidungsmerkmale der verschiedenen Arten dar. Wenn uns nun auch diese Temperaturfrage hier nicht genauer beschäftigen soll, da sie an anderen Stellen dieses Handbuches eingehende Behandlung findet (vgl. 1. Kap. d. IV. Bds.), so müssen wir sie doch streifen, um darauf hinzuweisen, daß nach den vorliegenden Untersuchungen die Maximaltemperaturen der Sporenbildung durch verschiedenartige vorherige Ernährung nicht verschoben werden. HANSEN ermittelte dies an Kulturen der Hefen *Sacch. cerevisiae I*, *S. Pastorianus I* und *Weinhefe Johannisberg II.* Verglichen wurden dabei Zuchten in Pepton-Dextrose-Nährsalzen, Pepton-Maltose-Nährsalzen und Würze. Die Temperaturgrenzen (Maxima) wurden dann in üblicher Weise mittelst der Gipsblockmethode ermittelt und stimmten für Material aus den drei Lösungen überein. Für die Sporenbildung ist ferner, abgesehen von der richtigen Temperatur, zunächst der ungehinderte Sauerstoffzutritt besonders wichtig; die Hefen sind nur für die Sprossung fakultativ anaerob, für die Sporenbildung streng aerob. Inwieweit das Alter der Zellen für die Sporenbildung maßgebend ist, sucht HANSEN folgendermaßen zu ermitteln. Jüngere und ältere Würzekulturen von *S. cerevisiae I* und *Weinhefe Johannisberg II* wurden ausgewaschen und in Wasser im Hängetropfen untersucht. Die den jüngeren Kulturen entstammenden Zellen sproßten zunächst aus, um nach einiger Zeit Sporen zu bilden; diese zeigten sich zuerst in den Mutterzellen, schließlich auch in den jüngsten Zellen der Kolonien. In dem Material, welches älteren Würzekulturen entstammte, trat überhaupt keine Sprossung ein, vielmehr alsbald Sporenbildung in einer größeren oder geringeren Zahl von Zellen. Konnte somit in diesen Fällen Sporenbildung ohne vorl gehende Sprossung nachgewiesen werden, so ging HANSEN (7) später einen Schritt weiter, und wandelte direkt Sporen in Sporar dies gelang durch Einsaat von in einer dünnen Schicht von W gequollenen Sporen in gesättigte wäßrige Gipslösungen bei

Johannisberg II. Aus diesen Versuchen zieht HANSEN den **Schluß, daß** vorheriges Wachstum keine notwendige Bedingung für die **Fortpflanzung** ist; KLEBS (4) kam, wie oben gesagt, bei anderen Pilzen zu **demselben** Ergebnis. Was die auslösenden Reize der Sporenbildung **anbelangt, so** 5 wirkten in den eben genannten Versuchen zunächst **Nahrungsentzug**, aber nicht dieser allein; dies folgert HANSEN aus der **Beobachtung, daß** bei richtiger Versuchsanstellung auch jugendliche, noch mit **Nahrung** vollgestopfte Zellen zur Sporenbildung schreiten können, **außerdem auch** aus der Tatsache, daß Zellen auf Gelatineplatten Sporen bilden **können,** 10 ohne daß von Nahrungsmangel die Rede ist. Vielmehr kommt **noch die** die Sprossung hemmende Kraft der gesättigten Gipslösung **und der** Stoffwechselprodukte in Betracht; letzteres ergibt sich **aus der das** Wachstum hemmenden und dadurch die Sporenbildung **fördernden Wir**kung einer 10-proz. Alkohollösung. Die Meinung NÄGELIS, **daß nur** 15 halbtrockene Zellen Sporen bilden könnten, ist unrichtig, hat aber **inso**fern großes historisches Interesse, als hierin zuerst die richtige **Erkennt**nis sich ausspricht, daß eine Notlage die Hefe zur **Sporenbildung ver**anlaßt. Noch einige Worte über die A s p o r o g e n i e, soweit **chemische** Qualität der Nährsubstrate mitspielt. Im Jahre 1889 gelang es HANSEN (4) 20 durch Züchtung successiver Generationen echter Hefen (*S. Pastorianus I*, viele andere, echte Hefen verhalten sich ebenso) in Nährlösungen, **deren** Qualität unwesentlich ist, z. B. gelüfteter Würze, oberhalb des **Temperatur**maximums für die Sporenbildung asporogene Stämme zu erzielen. **Die** Fähigkeit zur Sporenbildung war hier dauernd und wie es **scheint, un-** 25 widerbringlich abhanden gekommen. Unter anderen Bedingungen **(dem** Altwerden der Vegetation in ihrem Nährboden) tritt oft eine nicht **ganz** feste Asporogenie auf. Für *Sacch. Ludwigii* wies HANSEN nach, **daß man** auf diese Weise einmal kräftig sporenbildende, dann beinahe ganz **aspo**rogene, schließlich vollkommen asporogene Kulturen erzielen **kann.** 30 Diese Asporogenie zeigt sich bei Weiterzüchten in Würze längere **Zeit** erblich; setzt man jedoch der Lösung Dextrose zu, so schlägt in **den** meisten Fällen die asporogene Form alsbald wieder zur **sporenbildenden** Stammform zurück. Dieser Rückschlag ist also hier durch einen **chemischen** Ernährungsreiz zu erzielen. Aehnliches beobachtete KLÖCKER (1) bei 35 *Sacch. Marxianus*. — OSTERWALDER (1) beschreibt neuerdings Obstweinhefen, die sich durch schnelle und reichliche Sporenbildung auszeichnen. und Sporen nicht nur an der Luft, sondern auch in der vergorenen Flüssigkeit bilden. Schießlich macht KLEBS (7) soeben in einer Arbeit, die nicht mehr eingehend berücksichtigt werden konnte, weitere Mitteilungen 40 über Nahrungsmangel als auslösenden Reiz für die Sporenbildung der Hefe.

Auch über die **Bedingungen der Sporenbildung bei den Bakterien** können einige Sätze von mehr oder minder allgemeiner Gültigkeit **aus**gesprochen werden. Eine eingehendere Darstellung ist schon **auf** S. 108—113 gegeben worden. Früher herrschte vielfach die **Auffassung,** 45 daß die Sporenbildung als Zeichen der üppigsten Entwicklung **zu be**trachten sei, bis BEHRING (1) bestimmte Beziehungen zur Ernährung **auf**deckte und nachwies, daß beim *Bac. anthracis* sich Sporenbildung **nur** dann zeigt, wenn er auf verdünntem (1 : 40), nicht aber wenn er **auf** unverdünntem Rinderblutserum gezüchtet wird. Aehnliches gilt **für** 50 Harnkulturen. An demselben Objekte erwies dann BUCHNER (1), **daß** Erschöpfung des Nährsubstrates die physiologische Bedingung **für** Sporenbildung ist. Diese bleibt aus, wenn dauernd für Ersatz **der** verbrauchten Bouillon gesorgt wird, tritt aber sofort lebhaft **ein,**

wenn die Stäbchen in Wasser übertragen werden. Damit stimmt die weitere Erfahrung, daß auf verdünnten Lösungen von Fleischextrakt sich schneller Sporen bilden, als auf starken Lösungen derselben Substanz. Auch durch wachstumshemmende, in richtiger Konzentration zugefügte Stoffe kann die Sporenbildung beschleunigt werden, z. B. durch Koch- 5 salzgaben. Kochsalzfreie Kulturen zeigten Sporen nach 30 Stunden, solche, die mit 2 Proz. versetzt waren, schon nach 24 Stunden; ein Zusatz von 4 Proz. war schon etwas zu reichlich und verzögerte die Sporenbildung. OSBORNE (1) griff die Frage wieder auf und zeigte, daß nicht Erschöpfung jedes beliebigen Nährbodens Sporenbildung auszulösen ver- 10 mag, da auch die dabei positiv wirksamen Stoffe nicht außer acht gelassen werden dürfen; auf schlechten Nährböden ist begreiflicherweise der schließliche Ertrag an Sporen geringer als auf guten. Genauere Untersuchungen an *Bac. anthracis*, *B. subtilis* und *B. tumescens* verdanken wir SCHREIBER (1): Nahrungsentzug und Zusatz von Stoffen, die plötzlich 15 das Wachstum hemmen, befördern dadurch indirekt die Sporenbildung; solche Stoffe sind Natriumkarbonat, schwefelsaures Magnesium, Kochsalz. Uebereinstimmend mit diesen Befunden konstatierte dann STEPHANIDIS (1) an *Bac. anthracis*, daß die Sporenbildung auf schlechten Böden, auf denen das Wachstum kümmerlich ist, rascher eintritt, daß aber auf 20 guten Nährböden die Dichte der Sporen, d. h. die Intensität der Sporenbildung, schließlich eine größere ist. Neue Gesichtspunkte in diese Frage trug MIGULA mit dem Nachweis, daß zu den das Wachstum hemmenden, darum die Sporenbildung fördernden Stoffen auch schädliche Stoffwechselprodukte gehören können, die auch bei reichlichster Zufuhr von Nahrung 25 diese Wirkung äußern; inwieweit es sich hier um Stoffwechselprodukte im engeren Sinne, oder um Veränderung, etwa Säuerung der Nährböden handelt, bleibt in jedem Einzelfalle zu untersuchen (s. S. 111). Ueber Anaerobe verdanken wir MATZUSCHITA (2) die Angabe, daß ebenfalls Erschöpfung der Nährlösung die Sporenbildung auslösen kann, zumal 30 nach vorhergehender guter Ernährung; z. B. erfolgte in Zuchten auf traubenzuckerhaltigen Böden die Sporenbildung intensiver als auf zuckerfreien. Den von MIGULA betonten Einfluß von Stoffwechselprodukten hält MATZUSCHITA (2) für sehr zweifelhaft. Besonders wichtig, deshalb hier im Zusammenhang zu behandeln, sind die Beziehungen der Sporenbildung 35 der Spaltpilze zum Sauerstoff. SCHREIBER erkannte in genügendem Sauerstoffzutritt eine positiv unerläßliche Bedingung für die Sporenbildung von Aeroben; das Minimum des Sauerstoffdruckes liegt für das Wachstum tiefer als für die Sporenbildung. MATZUSCHITA fand im Einklang damit, daß aerobe Formen die selbst bei ganz minimalem Luftzutritt noch wachsen 40 können, doch Sporen nie unterhalb eines Luftdruckes von 30 mm bilden. Von fakultativ Anaeroben liegen Beobachtungen vor, nach welchen manche derselben die Sporenbildung nur bei Luftzutritt ausführen können (Migula). Für *Bac. anthracis* lehrte WEIL (1), daß er bei richtiger Ernährung (auf Quittenschleim etc.) auch ohne Sauerstoffzutritt Sporen bilden kann, und 45 dasselbe fand MATZUSCHITA für zwei fakultativ anaerobe Arten, deren eine der *Bac. brevis* = *B. lactis I* FLÜGGE war. Besondere Verdienste erwarb sich MIGULA durch den Nachweis, daß bestimmte obligat anaerobe Bakterien (*B. tetani*) bei Luftzutritt Sporen bilden können. Auch PFEFFER (4) trat dafür ein, und endlich gelang es MATZUSCHITA, das- 50 selbe für eine große Anzahl (alle von ihm studierten) Anaerobier zu erweisen. Andererseits gab BEIJERINCK (4) an, daß *B. butylicus* nur bei vollkommenen Sauerstoffmangel Sporen bilden könne. Daß aber für

die andern Anaeroben Sauerstoffzutritt für die Sporenbildung **nicht unerläßlich** ist, geht aus der oben schon citierten Angabe MATZUSCHITA's hervor, daß auch bei Luftmangel infolge Erschöpfung der Nährlösung Sporenbildung eintreten kann. — Daß Giften gegenüber der Sporenbildungsvorgang oft weniger widerstandsfähig ist, als das vegetative Wachstum, wies BEHRING (1) am *Bacillus anthracis* nach.

Ein Rückblick auf diesen Paragraphen zeigt uns, daß, wie alle Lebensäußerungen, so auch die Formgestaltungen von einem großen Komplexe verschiedener gleichzeitig wirkender Bedingungen abhängen, deren jede ihr Minimum und Maximum, ev. auch ihr Optimum hat. Es liegt demnach ganz offenbar durchaus im Belieben des Forschers, welchen der verschiedenen Faktoren er in seinen Versuchsreihen zu dem auslösenden machen will: Bewirke ich durch Salzzusatz zu einer Bakterienkultur die Sporenbildung, so ist dieser das auslösende Moment; überführe ich aber dieselbe Kultur in Wasser, entziehe die Luft und lasse nach einiger Zeit Luft wieder zutreten, so ist der Sauerstoffzutritt das auslösende Moment der nun eintretenden Sporenbildung. Wenn trotzdem vielfach ein bestimmter Faktor als der vor allen anderen eine Formgestaltung auslösende charakterisiert wird, so hat dies seinen Grund in der alle physiologischen Untersuchungen durchdringenden ökologischen Betrachtungsweise: Man wird den Faktor, welcher im natürlichen Lebensgange die Sporenbildung auszulösen pflegt, auch im Experimente als den „eigentlich auslösenden“ bezeichnen.

§ 79. Die Elektion der Nährstoffe.

Noch mehr als bei der Betrachtung anderer Organismen drängt sich bei der Betrachtung der Pilze die Erscheinung auf, daß der Stoffwechsel nicht in feste Bahnen eingezwängt ist, sondern einen weitgehenden Spielraum hat. Wenn der Satz zu Rechte besteht, daß der Stoffwechsel der Organismen für den Kreislauf der Stoffe auf der Erde von großer Bedeutung ist, so gilt doch auch dessen Umkehrung, daß die Kombination der den Organismen zur Verfügung gestellten Stoffe ihrerseits den Stoffwechsel wesentlich beeinflußt und reguliert. Der Stoffwechsel ist eigentlich kaum etwas anderes als ein stetes Ineinandergreifen von Regulationsprozessen; solche sind daher im vorhergehenden, insbesondere im § 78, schon in großer Anzahl angeführt worden. In dem vorliegenden und in dem darauf folgenden Paragraphen sollen nun zwei Gruppen von Regulationserscheinungen des Stoffwechsels betrachtet werden, welche für die technische Mykologie von großer Bedeutung sind, nämlich die Elektion von Nährstoffen und sodann die regulatorische Bildung von Enzymen.

Bei der Besprechung der Elektion der Nährstoffe handelt es sich um die Frage, in welcher Weise ein Pilz sich verhält, wenn ihm ein Nährelement, in erster Linie der Kohlenstoff, gleichzeitig in verschiedenen Bindungsformen geboten wird. Diese Frage nach der **Elektion von Kohlenstoffverbindungen durch Schimmelpilze** führt uns in die Zeit der Morgenröte ernährungsphysiologischer Pilzforschung zurück, als PASTEUR (2) nachwies, daß *Penicillium* bei Darbietung von Rechts- und Linksweinsäure bloß die erstere verbraucht, eine Entdeckung, die später PFEFFER (2) durch die Feststellung vervollständigte, daß es sich nur um eine relative, nicht um eine absolute Deckung der Linksseitens der Rechts-Komponente handelt. Diese Fälle von sog. „Spaltung

racemischer Körper" sind also Spezialfälle der Elektion, sollen uns aber nicht weiter beschäftigen, weil sie im 15. Kapitel dieses Bandes ihre Behandlung erfahren werden.

Wir gehen vielmehr von DUCLAUX's (1) Beobachtung aus, daß *Aspergillus*, wenn ihm Buttersäure und Essigsäure (als Salze) gemeinsam 5 geboten werden, zuerst die Essigsäure und dann die Buttersäure verbraucht. Konnte man glauben, daß dies an dem geringeren Nährwert der Buttersäure liege, so vermochte DUCLAUX dem die Erfahrung entgegenzuhalten, daß auch die Weinsäure, die weit besser als die Essigsäure nährt, doch durch die letztere zunächst geschützt wird. Beispiels- 10 weise waren nach zwei Tagen von den in äquivalenten Mengen gebotenen Säuren von der Essigsäure 95 Proz. und von der Weinsäure erst 50 Proz. verschwunden. Der „Nährwert" schlechthin entscheidet also nicht darüber, welcher von zwei gleichzeitig gebotenen Stoffen vorzugsweise verbraucht wird. 15

In Fluß kamen diese Fragen erst durch die zuvor schon erwähnte Arbeit PFEFFER's, aus welcher wir hier einige der wichtigeren Ergebnisse herausheben.

Versuchspilze waren *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger*, denen ein guter Nährstoff (Dextrose oder Pepton Witte) ge- 20 meinsam mit einem schlechteren Nährstoffe (Glycerin, die Salze der Milchsäure oder Essigsäure) geboten wurde. Das wichtigste Ergebnis war auch hier die Feststellung, daß sich Essigsäure anders verhält als die übrigen zwei minderwertigen Nährstoffe; denn sie wird weder durch Dextrose noch durch Pepton vor stärkerer Inanspruch- 25 nahme geschützt, während die Milchsäure ebenso wie das Glycerin, wenn hinreichende Mengen von Dextrose und Pepton vorhanden sind, vor Verarbeitung bald weniger, bald mehr, ja allenfalls sogar ganz bewahrt bleiben. Die hier folgenden Zahlen erweisen die große Bedeutung nicht nur der Beschaffenheit sondern auch des gegenseitigen Mengenverhält- 30 nisses der vereinten Nährstoffe. Bei Darbietung von 4 Proz. Dextrose und 1,6 Proz. Glycerin wird durch *Aspergillus niger* bei vorwiegendem Dextrosekonsum noch eine geringe Menge von Glycerin verarbeitet. Steigt jedoch die Menge der Dextrose auf 8 Proz. und verringert sich die des Glycerins auf 0,92 Proz., so wird das Glycerin vollkommen ge- 35 schützt. Umgekehrt kann das letztere, selbst wenn in gewaltigem Ueberschusse vorhanden, die Dextrose niemals vollkommen schützen. Daß aber trotzdem ein Zusatz von Glycerin den Verbrauch an Dextrose einschränkt, geht aus den Versuchen mit *Penicillium* hervor. Was die Kombination Pepton-Glycerin betrifft, so wird bei *Aspergillus* das 40 Glycerin durch das Pepton besser als durch die Dextrose geschützt; 4,5 Proz. Pepton schützen 1 Proz. Glycerin vollkommen. Bei *Penicillium* ist Pepton zwar weniger wirksam als bei *Aspergillus;* aber auch bei diesem schützt es besser als die Dextrose. Die Essigsäure wird, wie schon oben erwähnt, im Gegensatze zu Glycerin und Milchsäure immer 45 in prozentisch höherer Menge als Pepton oder Dextrose in den Stoffwechsel hineingerissen, und zwar ebensowohl von *Penicillium* als von *Aspergillus*. Werden auf 1 Teil Essigsäure etwa 10 Teile Dextrose geboten, so erweisen sich nach Ablauf des Versuches 75 Proz. der Essigsäure, aber nur 50 Proz. der Dextrose als verbraucht. Nichtsdestoweniger 50 vermag aber die Essigsäure nicht dauernd die Dextrose zu schützen, denn die letztere wird endlich bis auf die letzten Spuren verzehrt. Das sind

also die Ergebnisse bei vereinter Darbietung einer minderen und einer besseren Nahrungsquelle.

Sind zwei gute Nährstoffe, Pepton und Dextrose, gemeinsam vorhanden, so vermag das Pepton nicht den Zucker zu schützen, geringe 5 Mengen von Dextrose werden vielmehr neben viel Pepton glatt aufgezehrt. Umgekehrt ist es auch wahrscheinlich, daß geringe Mengen Pepton nicht durch noch so große Zuckermengen geschützt werden. Aus den Versuchen von BUTKEWITSCH (1), wie hier gleich angefügt sei, dürfte aber hervorgehen, daß die Anwesenheit von Dextrose, weniger die 10 von Glycerin und Chinasäure, die Peptonspaltung etwas einschränken kann; wenigstens tritt in Zuchten des *Aspergillus niger* in dextrosehaltigen Peptonlösungen das Spaltungsprodukt des Peptons, das Ammoniak, in weit geringerer Menge auf als in dextrosefreien. Eine andere zulässige Erklärung ist allerdings die, daß zwar das Pepton in dextrosehaltigen 15 Zuchten ebenso reichlich gespalten wird als in dextrosefreien, daß aber das Ammon im Verein mit der Dextrose sofort wieder in den Stoffwechsel hineingezogen wird und aus diesem Grunde als solches niemals in größerer Menge vorhanden ist.

Den Nachweis, daß auch bei Ernährung mit Glycosiden Elektion 20 sich bemerkbar macht, verdanken wir PURIEWITSCH (2). Zunächst zeigte er, daß von den beiden Spaltungsprodukten zuerst die Dextrose und dann erst das Benzolderivat verzehrt wird, falls letzteres nicht in der Nährlösung verbleibt. Was weiter den Schutz der Glycoside durch Kohlenhydrate betrifft, so fand er, daß Salicin durch die 6-fache Menge 25 von Dextrose, die 12—13-fache von Saccharose, die 14—16-fache von Stärke geschützt wird. Helicin wird nicht gespalten bei Anwesenheit der 7-fachen Menge von Dextrose, der 12—13-fachen Menge von Saccharose oder der 15—16-fachen Menge von Stärke, und Arbutin nicht, wenn die Lösung die 11—12-fache Menge von Saccharose oder die 15—16-fache 30 Menge von Stärke führt. Sind zwei Glycoside zusammen in gleichen oder verschiedenen Mengen in der Nährlösung vorhanden, so werden beide mit gleicher Energie gespalten. Hier scheint also gegenseitiger Schutz nicht zu bestehen.

Wie diese Elektionserscheinungen zu erklären sind, läßt sich nicht 35 sagen. Jedenfalls sind alle Versuche abzuweisen, sie auf einfache chemische oder physikalische Eigenschaften der betreffenden Stoffe zurückzuführen. Man kann die größere oder geringere Oxydierbarkeit nicht ausschließlich in Betracht ziehen, da wir sahen, daß gerade eine schwer oxydierbare Substanz wie die Essigsäure, besonders schnell ver- 40 brannt werden kann. Auch größere oder geringere Diffusionsgeschwindigkeit können nicht maßgebend sein, wie das Beispiel von dem bevorzugten Verbrauch der Rechtsweinsäure lehrt. Schließlich macht der Hinweis auf spezifische Unterschiede alle einfachen physikochemischen Erklärungsversuche zu schanden, so der Befund PFEFFER's (2), daß *Botrytis* 45 *tenella* und *Bac. mycoides* im Gegensatz zu den oben genannten Schimmelpilzen die Rechts- und die Linksweinsäure gleich schnell verzehren (s. das 15. Kapitel). In Hinblick auf den für den Organismus hervorgehenden Vorteil wäre wohl die Annahme zulässig, „daß auch in dem Verhalten einer Mischung von Essigsäure und Dextrose die Elektion 50 nach Maßgabe der leichtesten Befriedigung des Bedürfnisses gelenkt wird. Denn das wäre der Fall, wenn unter diesen Umständen der Atmung oder irgend einer anderen Partialfunktion am besten durch Verarbeitung der Essigsäure Genüge geleistet würde“ (PFEFFER [4]).

Vielleicht wäre für gewisse Fälle auch daran zu denken, daß der zunächst schneller verschwindende Stoff gar nicht dem Leben dient, sondern nur wegoxydiert wird, um die Ernährung zu erleichtern. In diesem Zusammenhange darf wohl auf die Beobachtung von BEHRENS (2) hingewiesen werden, daß *Botrytis* die Weinsäure, obwohl sie kein guter 5 Nährstoff für diesen Pilz ist, doch sehr schnell verbrennt.

Wir haben uns bisher auf die Besprechung der Elektion von Kohlenstoffquellen durch Schimmelpilze beschränkt. Selbstverständlich läßt sich die Behandlung des Problemes der Elektion ebensogut auf die anderen Nährstoffe, etwa die Stickstoffquelle, ausdehnen. Für die 10 **Elektion der Stickstoffverbindungen** seien nun ein paar Beispiele gegeben. Die so beliebte Stickstoffquelle Pepton-Witte ist kein einheitlicher Körper; BUTKEWITSCH (1) fand, daß dieses Präparat unter den auf Tanninzusatz nicht ausfallenden stickstoffhaltigen Bestandteilen außer Ammon auch solche führt, welche besonders kräftig verzehrt werden 15 und somit die anderen Bestandteile zu schützen vermögen. — Werden Ammon und Nitrat gleichzeitig geboten, so dürfte wohl kein Fall bekannt sein, in welchem das Nitrat in höherem Maße verbraucht wird, wohl aber kommt häufig vor, daß beide gleich stark verarbeitet werden, oder daß das Ammon bevorzugt wird. Auch in dieser Hinsicht wurde 20 *Aspergillus niger* genau geprüft. Es kam dabei die lehrreiche Tatsache zutage, daß das Ergebnis je nach den Versuchsbedingungen verschieden ausfallen kann. Nach PFEFFER (4) ist eine gegenseitige Deckung von Ammon und Nitrat nicht gewöhnlich, nebenbei bemerkt auch nicht bei *Penicillium glaucum*. Auch die Angaben WEHMER's (1) sprechen nicht 25 dafür, daß vorwiegend das Ammon verzehrt wird, denn die Säuerung in Ammoniumnitratnährlösungen war wesentlich auf Vorhandensein von Oxalsäure, nicht von Salpetersäure, zurückzuführen. TANRET (1) fand, daß bei erhöhter Temperatur (30—40°) vorwiegend das Ammon in den Stoffwechsel gerissen wird, so daß durch Freiwerden von Salpetersäure 30 die Konidienbildung unterdrückt werden kann (s. S. 195). Auch MALFITANO (1) bemerkte, daß das Ammon in stärkerem Maße verschwindet als das Nitrat. Und schließlich konnte BUTKEWITSCH (1) geradezu nachweisen, daß bei Zufuhr von Ammoniumnitrat die Grenze der Ausnutzbarkeit der Nährlösung durch die Ansammlung freier Salpetersäure festgelegt wird. 35 Nach diesen Angaben scheint es fast, als ob die Befunde WEHMER's und PFEFFER's durch relativ niedere Temperatur bedingt worden wären, daß also die Elektion sich mit der Temperatur verschiebe; jedoch werden darüber wohl erst Versuche zu entscheiden haben. Bemerkenswert ist der durch BUTKEWITSCH (1) geführte Nachweis, daß *Rhizopus nigricans*, 40 der infolge Mangels eines invertierenden Enzymes auf neutralen oder alkalischen Rohrzuckerlösungen nicht gedeiht, dies gleichwohl zuwege bringt, wenn er mit Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle gefüttert wird, weil dann infolge erhöhten Verbrauches des Ammoniaks genügende Mengen von Säuren frei werden, um die Hydrolyse des Rohrzuckers zu bewirken. 45

Auch alle anderen Nährelemente, z. B. die in den Nährsalzen enthaltenen, können mit ähnlicher Fragestellung untersucht werden, und es läßt sich diese noch dahin erweitern, ob ein Element ein anderes vollständig zu ersetzen vermag, und wie sich dann bei gleichzeitiger Darbietung die Aufnahme gestaltet, ferner inwieweit etwa nachträglich ein 50 Austausch eintritt, wenn zunächst bloß das eine und nachher das andere Element geboten wird. Da aber bis heute in keinem einzigen Falle die vollkommene Vertretbarkeit, d. h. die vollkommene physiologische Gleich-

wertigkeit zweier Elemente sich hat erweisen lassen, ist die aufgeworfene Frage dahin zu beschränken, ob ein notwendiges Element, z. B. das Magnesium, durch gleichzeitige Anwesenheit eines anderen, z. B. des Calciums, zum Teil geschützt werden, bzw. inwieweit ein teilweiser 5 nachträglicher Austausch stattfinden kann. Es decken sich diese Fragen wesentlich mit den schon seit alter Zeit in der Botanik erörterten nach dem Wahlvermögen der Wurzeln grüner Pflanzen gegenüber den im Bodenwasser gebotenen Nährsalzen. Zusammenhängende Beobachtungen an Pilzen liegen aber kaum vor, und wir beschränken uns hier auf den 10 bloßen Hinweis. Daß ein derartiger Schutz vorkommen kann, ist ungeachtet des Mangels eigens dazu angestellter Versuche wohl sicher. Es sei an die Angabe von LIND (1) erinnert, daß die im „grauen Kalk" vorhandenen Nährsalze dann geschützt werden, d. h. daß der Kalk durch darauf wachsende Pilze (*Penicillium*) weniger angefressen wird, wenn 15 noch besondere Nährsalze zur Verfügung gestellt wurden.

Ist in vielen der oben geschilderten Fälle eine Deckung der einen durch die andere Nahrungsquelle zu bemerken, so ist doch auch der (sozusagen umgekehrte) Fall bekannt geworden, daß die gleichzeitige oder auch vorherige Darbietung eines Nährstoffes die Einbeziehung eines 20 anderen in den Stoffwechsel überhaupt erst ermöglicht. Ein Beispiel in betreff der Stickstoffzufuhr gibt LUTZ (1): quaternäre Ammoniumbasen sind für sich allein untauglich, verfallen aber dem Stoffwechsel von *Aspergillus niger*, wenn gleichzeitig Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle zugegen ist.

25 Die Elektion von Kohlenhydraten, insbesondere von Zuckerarten, durch Hefen, wird im 4. Kapitel des IV. Bandes, auf welches verwiesen sei, besprochen werden.

Einige Angaben über **Elektion durch Bakterien** seien schließlich noch angefügt. Einen Schutz der Eiweißkörper durch Dextrose dürfte 30 man wohl mit Recht schon aus der Angabe von LIBORIUS (1) herauslesen, daß jene Zuckerart die Gelatineverflüssigung durch anaerobe Bakterien hintanhält. In betreff der Stickstoffquellen erinnern wir an die Angabe von KOLKWITZ (2), daß Erdbakterien Nitrate nicht angreifen, wenn ihnen Eiweißkörper (aus Regenwurmleibern stammend) zur Ver-35 fügung gestellt werden. Ferner ist oben (§ 74) schon auf die Angabe von MAASSEN (1) hingewiesen worden, daß bei verschiedenen Denitrifikationsbakterien Nitratstickstoff, soweit er dem Körperaufbau dient, durch die Anwesenheit von Pepton oder anderen organischen Stickstoffverbindungen geschützt wird. Von Leguminosenbakterien sowie von 40 *Clostridium Pastorianum* ist (s. Bd. III, S. 48 bzw. 17) bekannt, daß gewisse Stickstoffverbindungen den freien Stickstoff vom Eintreten in den Stoffwechsel abhalten. Es darf schließlich auch noch auf die Beobachtung von KAPPES (1) hingewiesen werden, daß Bakterien aus Nährböden, die gleich viel Natrium und Kalium enthalten, von letzterem mehr auf-45 nehmen, daß aber der Verbrauch von Natrium denjenigen von Kalium übertrifft, wenn von ersterem mindestens dreimal soviel als von letzterem vorhanden ist.

Auf Elektionsfragen ganz allgemeiner Natur, z. B. inwieweit ein parasitischer Stoffwechsel durch geeignete Ernährung zum saprophytischen 50 werden kann, darf hier nicht näher eingegangen werden; man vergleiche darüber z. B. die bei BREFELD (2) gemachten Angaben betreffend *Chaetocladium*.

§ 80. Die regulatorische Bildung von Enzymen. Die Erblichkeit erworbener Eigenschaften.

Die Bildung von Enzymen ist keine gegebene Eigenschaft der Pilze, sondern in weitgehendem Maße von den Ernährungsbedingungen abhängig. Soweit dabei die chemische Beschaffenheit des Nährbodens eine Rolle spielt, soll dies an einigen Beispielen hier erläutert werden; eine wirklich erschöpfende Behandlung ist bei der ungeheuren Größe der Enzymliteratur untunlich.

Beginnen wir bei den **Schimmelpilzen.** Wir verdanken Büsgen (1) die Bemerkung, daß *Aspergillus Oryzae* auch auf Bouillon und zuckerhaltigen Nährlösungen Diastase bildet, d. h. also auch dann, wenn es nicht eben nötig ist. Später wies Ad. Hansen (1) nach, daß *Penicillium* auf Zuckergelatine zwar ein gelatinelösendes, aber nicht auch ein stärkelösendes Enzym ausscheidet, und warf im Anschluß daran die allgemeine Frage auf, inwieweit wohl durch die Beschaffenheit des Nährbodens die Bildung von Enzymen geregelt werde. Eine eingehende Untersuchung über Diastasebildung verdanken wir J. Katz (1), dessen Feststellungen, soweit sie *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* betreffen, hier erörtert werden sollen. Hatte Fermi für viele Bakterien nachweisen können, daß sie bei Abwesenheit von Pepton keine Diastase hervorbringen, so gilt das nicht auch für die eben genannten zwei Schimmelpilze. Beide bilden auch ohne Eiweißzufuhr dieses Enzym. An die Anwesenheit von Stärke ist die Entstehung von Diastase (bei *Asp. niger*) ebenfalls nicht gebunden. Insofern ist aber doch eine regulatorische Bildung unverkennbar, als sie bei Anwesenheit von Traubenzucker stark eingeschränkt wird, weniger durch Gaben von Maltose, Glycerin, Chinasäure, Weinsäure. Auch Zusatz einer hinreichenden Menge von Milchzucker hemmte die Bildung, wenigstens bei *Penicillium.* Peptonzusatz bewirkte eine Steigerung des Wachstums und damit parallel gehend eine solche der Diastaseerzeugung. Aus diesem Grunde ist bei Anwesenheit von Pepton in der Nährlösung ein höherer Zuckerzusatz erforderlich, um die Diastasebildung zu schwächen. Diese Regulationserscheinungen treten bei *Penicillium* deutlicher als bei *Aspergillus* auf; dafür erwiesen sich Zuchten des letzteren aber als besonders günstig für den Nachweis, daß Wegnahme des entstandenen Enzymes die Bildung neuer Mengen desselben zur Folge hat. Wurde nämlich die Diastase durch Tanninzusatz ausgefällt, so bewirkte dies eine Erhöhung der Diastasebildung, von 100 in tanninfreien Zuchten auf 140 in tanninführenden. Es ist dies ein beachtenswerter Sonderfall jenes Stoffwechselgesetzes, welches besagt, daß die Wegnahme oder die Festlegung eines Produktes dessen Bildung in Gang erhält. Katz stellte dann noch besonders fest, daß in den Fällen, in welchen er keine Diastase in der Nährlösung nachweisen konnte, diese auch im Zellinneren nicht gebildet worden war; sie ließ sich auch im Auszug des zerriebenen Mycels nicht nachweisen. Als Reagens auf Diastase diente Lintner's lösliche Stärke.

Weitere Untersuchungen hat Duclaux (2) vorgenommen, dessen Befunde wir nach seiner Darstellung in dem „Traité de Microbiologie“ wiedergeben. *Aspergillus glaucus* bildet, wenn er auf einer Lösung von Nährsalzen und milchsaurem Kalk gezüchtet wird, Amylase, nicht aber Invertin, Labenzym, Casease. Auf Rohrzucker-Mineralsalzlösung hingegen bildet er nur Invertin, aber nicht die anderen genannten Enzyme.

Auch bei Züchtung auf Liebig's Fleischextrakt entsteht weder Labenzym noch Casease. Diese beiden Enzyme treten vielmehr nur bei Züchtung auf Milch auf. *Penicillium glaucum*, welches ein eifrigerer Enzymbildner als jener andere Schimmelpilz ist, zeigt neben gleichartigen Erschei-
5 nungen auch beachtenswerte spezifische Unterschiede gegenüber diesem. So bildet er auf milchsaurem Kalk nur Invertin, keine Amylase. Auf Rohrzuckerlösung entsteht Invertin, auf Glycerin ebenfalls, daneben gleichzeitig etwas Amylase. Casease und Labenzym treten aber auch bei *Penicillium* auf all diesen Böden nicht auf, auch nicht auf Stärke
10 oder Liebig's Fleischextrakt, vielmehr nur bei Züchtung auf Milch. Es gilt somit, daß zwar Casease und Labenzym nur nach Maßgabe des augenblicklichen Bedarfes entstehen, die anderen Enzyme aber nicht. Es ist auch noch zu bemerken, daß DUCLAUX nur auf die Ausscheidung von Enzymen achtete, so daß denkbar wäre, daß in den Fällen, in
15 welchen er gewisse Enzyme nicht nachweisen konnte, diese zwar gebildet, aber nicht aus der Zelle ausgeschieden worden waren.

Die Abhängigkeit der Bildung eines Enzymes, welches Eiweiß (Gelatine) zu lösen vermag, von äußeren und inneren Bedingungen, ist durch MALFITANO (1) am *Aspergillus niger* studiert worden. Er fand
20 eine Zunahme des Enzyms in den Zellen mit deren Alter. Solange sie voll lebenskräftig sind, halten sie das Enzym in ihrem Innern fest; mit dem Alter und Absterben diffundiert es nach außen in die Nährlösung. Der Maximalgehalt dieser letzteren an Enzym ist daher dann erreicht, wenn das Mycel die Konidienbildung vollendet hat und abzusterben be-
25 ginnt. Die Art der Ernährung beeinflußt die Art des Enzyms nicht und dessen Menge nur insofern, als sie die Masse des entstehenden Mycels bedingt, welcher die Enzymbildung proportional ist.

Eine genaue, an *Monilia sitophila* (s. 16. Kap. d. IV. Bds.) durchgeführte Untersuchung verdanken wir WENT (1). Der genannte Pilz
30 bringt etwa zehn Enzyme hervor, die mit Ausnahme der Trehalase alle nach außen abgeschieden werden, durch Alkohol gefällt werden können und so der Untersuchung leicht zugänglich sind. Man kann sie auf Grund der Abhängigkeit ihrer Bildung von der Art der Ernährung zu drei Gruppen anordnen. Die erste Gruppe umfaßt diejenigen, welche
35 so ziemlich bei jeglicher Ernährungsweise gebildet werden, z. B. die Tyrosinase, die Diastase, die Invertase. Die zweite Gruppe umfaßt solche, welche zwar nicht immer, aber doch bei mehreren verschiedenen Ernährungsweisen entstehen. Hierher gehört z. B. die Maltoglucase, deren Bildung an die Anwesenheit ganz bestimmter Kohlenhydrate, der
40 Raffinose, der Cellulose, des Glycogens, geknüpft ist, die ferner auch bei Anwesenheit von Pepton entsteht, möglicherweise deshalb, weil aus dem Pepton ein Kohlenhydrat abgespalten wird. Auch Invertin tritt unter verschiedenen Bedingungen auf, also nicht bloß dann, wenn Rohrzucker als Nahrung dient, vielmehr auch bei Anwesenheit anderer Kohlen-
45 hydrate. Die dritte Gruppe umfaßt solche Enzyme, die streng regulatorisch nur dann gebildet werden, wenn der zu spaltende Körper tatsächlich anwesend ist, z. B. das Trypsin und das Labenzym. Das letztgenannte entsteht nur auf Milch bei Anwesenheit von Pepton. Auch das tryptische Enzym wird fast nur bei Anwesenheit von Pepton, viel-
50 leicht auch von Raffinose gebildet; der Anwesenheit von freiem Sauerstoff bedarf es hingegen nicht.

In seiner oben schon mehrfach erwähnten Studie über die enzymatische Spaltung von Eiweißkörpern durch Pilze hat BUTKEWITSCH (1)

nachgewiesen, daß das gelatinelösende Enzym bei *Aspergillus* und *Penicillium* auch bei Anwesenheit von Pepton reichlich gebildet und ausgeschieden wird. Wenn sich trotzdem zeigt, daß dieser Eiweißabkömmling die Verflüssigung der Gelatine durch seine Gegenwart hintanhält, so liegt dies daran, daß er einen hindernden Einfluß auf die Tätigkeit, 5 nicht aber auf die Bildung dieses Enzymes ausübt.

Ueber die Abhängigkeit der Enzymbildung bei den Hefen werden im Sechsten Abschnitt des IV. Bandes eingehende Mitteilungen gemacht werden, auf welche hiermit verwiesen sei.

Von **Bakterien** hätten wir, wenn wir streng chronologisch vor- 10 gingen, zuerst berichten müssen; denn WORTMANN (1) beobachtete als erster an Bakterien die regulatorische Bildung von Enzymen in ihrer Abhängigkeit von der Art der Ernährung. Auf gefaulten Bohnen und Kartoffeln herangezogene Gemische von Fäulnisbakterien legten ihr Stärkelösungs-Vermögen nämlich nur dann an den Tag, wenn ihnen 15 außer Stärke nutzbare Stoffe nicht geboten wurden. Schon eine Spur von weinsaurem Ammon verhinderte jeglichen Angriff auf die Stärkekörner in den genannten Unterlagen. KRABBE (1) zeigte dann, daß nicht allgemein der Befund zutrifft, daß nur in Gegenwart der zu verarbeitenden Stoffe das betreffende Enzym entsteht, und daß z. B. die Anwesen- 20 heit von Pepton die Bildung von Diastase steigert. Die fakultativ anaeroben Bakterien büßen, wie LIBORIUS (1) nachweisen konnte, bei Sauerstoffmangel die Fähigkeit zur Gelatinelösung oft ein. — Die auf die letztere Veröffentlichung folgenden Arbeiten von FERMI (1) ergaben, daß die meisten Bakterien auf eiweißfreien Nährböden keine eiweiß- 25 lösenden (trypsinähnlichen) Enzyme bilden. Befähigt dazu waren nur *Bac. prodigiosus* und *Bac. pyocyaneus*, aber diese beiden nur dann, wenn sie mit Glycerin, nicht wenn sie mit Zucker gefüttert wurden. Später zeigten FERMI und MONTESANO (1), daß zur Bildung von Invertase nicht unbedingt Zucker nötig ist, und daß dieses Enzym auch auf eiweißfreien 30 Böden entsteht. Eingehende Untersuchungen führte BEIJERINCK (1) aus: Er fand, daß *Bact. luminosum* und *Bact. indicum* die Bildung eines tryptischen Enzyms, nicht aber auch der Diastase, bei Zuckerzufuhr einstellen; bei anderen Bakterien vermochte Maltose die Bildung von Diastase zu hindern. J. KATZ stellte in seiner oben schon besprochenen 35 Arbeit fest, daß *Bac. subtilis*, wie schon FERMI gefunden hatte, nur bei Anwesenheit von Pepton Diastase bildet, daß aber *Bac. megaterium*, ähnlich wie *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger*, auch ohne Eiweißzufuhr diastatische Enzyme hervorbringt. Bei *Bac. megaterium* wirkt Zusatz von Zucker, zumal Maltose, hemmend, während bei *Penicillium* 40 Milchzucker in dieser Beziehung wirksamer war. Peptonzusatz steigerte die Diastasebildung nicht in dem selben Maße wie bei *Aspergillus* und *Penicillium*.

Es ist zum Schlusse noch auf einige Angaben hinzuweisen, denen zufolge durch das Züchten die Fähigkeit zur Bildung von Enzymen be- 45 einträchtigt oder verändert wird. BEHRENS (1) fand, daß *Bac. lupuliperda* allmählich das Vermögen verliert, Gelatine zu verflüssigen. Das gleiche gilt zufolge MATZUSCHITA (3) für *Bacillus anthracis*; durch mehrfach wiederholtes Züchten auf Agar wird es ihm aber wiedergegeben. Nach CONN (1) sollen verschiedene Stämme von *Micrococcus*-Arten (aus Milch) 50 vorkommen, die sich u. a. durch ihre mehr oder minder große Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, unterscheiden. Durch wiederholtes Abimpfen von den stärkst verflüssigenden Kolonien ließen sich Zuchten mit ge-

steigertem Vermögen zur Verflüssigung erhalten. BEIJERINCK (7) fand, daß in künstlicher Zucht *Bac. viridis* die Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, verliert, während umgekehrt wieder gewisse Vibrionen sie dadurch erlangen.

5 Rückblickend können wir bemerken, daß viele Enzyme, dem Gesetze der teleologischen Mechanik entsprechend, nur dann gebildet werden, wenn sie nötig sind, daß aber in vielen anderen Fällen deren Bildung so fest bestimmt ist, daß sie auch überflüssigerweise entstehen. Aber selbst da, wo das Bedürfnis, d. h. der Mangel an Stoffen, die ohne Enzyme 10 nicht verwertbar sind, ihre Bildung auslöst, müssen stets je nach der Art verschiedene, positiv wirkende Stoffe, vielfach Eiweißstoffe, vorhanden sein, welche die Bildung ermöglichen. —

Nachdem in dem vorliegenden und den vorhergehenden zwei Paragraphen einige wichtigere, durch die Ernährung bedingte Stoff- und 15 Formwechselregulationen besprochen worden sind, soll nun noch anhangsweise die Frage behandelt werden, inwieweit Veränderungen irgend welcher Art, die während der Kulturdauer an den Versuchsobjekten auftreten, mehr oder minder erblich sind; eine Frage die nicht bloß theoretisches Interesse hat, sondern bei jedem Ernährungsversuche 20 berücksichtigt werden muß, da das oft unbekannte Vorleben dem Ausgangsmaterial von Kulturen häufig seinen Stempel aufdrückt, ohne daß es demselben immer anzumerken ist, und darum identische Kulturen, die mit scheinbar gleichartigem Material beimpft werden, doch zu verschiedenen Resultaten führen können, was sich eben auf Un- 25 gleichartigkeit der unsichtbaren Erbmasse zurückführen läßt. Um den Stoff etwas übersichtlich zu gestalten, empfiehlt es sich, zunächst an einige derartige Veränderungen zu erinnern und zu untersuchen, welche derselben sich bis jetzt als konstant erblich bewährt haben, welche andererseits nach einiger Zeit infolge Rückschlages wieder verschwunden 30 sind. Erst im Anschluß daran soll weiter gefragt werden, welche Veränderungen durch die Kultur, d. h. durch bestimmte, während der Kultur wirksame Faktoren ausgelöst wurden, welche andererseits ohne direkte Einwirkung bestimmter Außenfaktoren aus Gründen, die in der spezifischen Struktur liegen, in die Erscheinung traten, also nur 35 während der, nicht durch die Kultur entstanden.

Daß tatsächlich während der Kultur Veränderungen vor sich gehen und auf die folgenden Generationen überspringen können, ist schon erwähnt worden. Es sei erinnert an die Befunde ERRERA's (1) über die allmähliche Anpassung des *Aspergillus* an höhere Konzentrationen, an 40 CHUDJAKOW's und FERRÁN's Untersuchungen über Anpassung von Anaeroben an Sauerstoff. Nach SCHOSTAKOWITSCH (1) findet Anpassung von *Dematium* an höhere Temperaturen statt. Auch die Anpassungsfähigkeit an Gifte ist allbekannt. Es sei in dieser Hinsicht noch auf die Angabe von RACIBORSKI (1) hingewiesen, daß *Basidiobolus ranarum* an höhere Gaben 45 von arsenigsaurem Kali gewöhnt werden kann. PULST (1), dem wir eine vergleichende Untersuchung über die Empfindlichkeit verschiedener Schimmelpilze gegen Metallgifte verdanken, konnte *Penicillium glaucum* an höhere Konzentrationen von Quecksilber- und anderen Salzen gewöhnen. Eine Angewöhnung an Kupfersulfat machte sich darin geltend, 50 daß Konidien auf kupferhaltigen Lösungen früher auskeimten, wenn die Decke, der sie entstammten, ebenfalls schon auf kupferhaltigen Lösungen gezüchtet worden war. Aehnlicher Angaben gibt es noch sehr viele. Es sei auf die Frage hingewiesen, ob es gelingt, Hefen von erblich

fixierter höherer Alkoholfestigkeit zu züchten, auf die allmähliche Angewöhnung der Hefen an Gifte, Flußsäure (Effront), schweflige Säure (Müller-Thurgau) usw., Fragen über die sich der Leser im 6. Kapitel des IV. Bandes genauer orientieren kann. Auch von einer erblichen Anpassung an die Ernährung ganz im allgemeinen ist schon (§ 78) gesprochen worden. Den Angaben von Neger (2) entnehmen wir die Mitteilung Ward's, daß *Botrytis*, die vorher auf Rüben kultiviert war, sich nachher auf diesem Substrate viel lebhafter entwickelt, als wenn sie von anderen Nährböden auf Rüben übertragen wird. Gottheil (1) beobachtete ferner eine Anpassungsfähigkeit seiner Bodenbakterien an die Nährlösungen. Für Bakterien wird eine mehr oder minder vererbbare Unterdrückung der Farbstoffbildung durch ungünstige Kulturbedingungen, z. B. allzustark erhöhte Temperatur, angegeben. Ein vielgenanntes Beispiel ist *Bacillus prodigiosus*. Nach Boekhout und Ott de Vries (1) verhält sich *Bacillus fuchsinus* ähnlich. Weitere Angaben finden sich bei Alfr. Fischer (2). In all den ebengenannten Fällen, in denen also durch bestimmte Kulturbedingungen Veränderungen am Versuchsmaterial ausgelöst wurden, handelt es sich aber keineswegs um Eigenschaften, die dauernd und unabhängig von den späteren Versuchsbedingungen fixiert wären. Vielmehr verschwinden sie alle über kurz oder lang wieder, sobald die Weiterzucht unter normalen Bedingungen stattfindet. Wenigstens gilt dies, soweit bekannt, für die Giftfestigkeit und für die durch erhöhte Temperatur bedingte Farblosigkeit; über dauernd farblose Formen s. unten. So entnehme ich den Vorlesungen von Alfr. Fischer (2) die Angabe von Dieudonné, daß *Bac. prodigiosus*, der durch fortgesetzte Kultur bei 37,5 ° farblos geworden war, wieder bei 22 ° kultiviert, in der 35. Generation die Fähigkeit zur Farbstoffbildung wieder erlangt hatte.

Künstlich erzielbaren und dauernd fixierten Veränderungen begegnen wir jedoch, wenn wir uns der von E. Chr. Hansen entdeckten Asporogenie der echten Saccharomyceten zuwenden: Geht man von einer Hefe aus, die unter normalen Bedingungen reichlich Sporen bildet, und züchtet man sie bei höherer Temperatur. z. B. den *S. Pastorianus I* bei 32 °, *Weinhefe Johannisberg II* bei 36 °, in Nährlösungen, so erscheinen sowohl konstant asporogene Zellen als auch solche, welche die Fähigkeit zur Sporenbildung nur vorläufig verloren haben. Auch auf festen Böden, Würzegelatine, läßt sich dasselbe Ziel erreichen. Auf Agar-Würzegelatine bildeten bei 34 ° *S. anomalus* und bei 32 ° *S. Pastorianus I* konstant asporogene Formen. Ueber die Asporogenie der Bakterien, die hier nicht weiter berührt werden soll, s. S. 110.

Behufs richtiger Deutung solcher Veränderungen, welche durch die Züchtung oder während dieser zustande kommen, haben wir nun immer folgendes zu beachten: Handelt es sich um eine plötzlich oder allmählich auftretende **Transformation** des gesamten Versuchsmaterials, d. h. eine Veränderung irgend welcher Zelleigenschaften durch eine ganz bestimmte Kulturbedingung? Oder aber, liegt eine **Spaltung** des Versuchsmaterials in verschiedene Formen vor, welche nicht durch bestimmte Kulturbedingungen direkt bewirkt wird, sondern durch Bedingungen, die in der spezifischen Struktur begründet liegen und uns unbekannt sind wie diese selbst. Natürlich sind Spaltungen gleichwohl nicht vollkommen unabhängig von den Kulturbedingungen; z. B. ist der Fall denkbar, daß bestimmte Spaltungen nur innerhalb bestimmter Temperaturgrenzen stattfinden. Solche Spaltung würden wir, sobald

sie sprungweise und sofort erblich konstant auftritt, als **Mutation** zu bezeichnen haben. Man könnte versucht sein zu glauben, daß die Frage „Spaltung oder Transformation“ in jedem Falle leicht zu entscheiden sei. Dies trifft aber nicht zu, denn tatsächlich kann sich an eine 5 Spaltung ein auslesender Einfluß der jeweiligen Kulturbedingungen anschließen, die eine Form unterdrücken, die andere fördern, und so eine Transformation vortäuschen.

Versuchen wir nun die Anwendung auf einige Beispiele, so dürften die oben genannten Gewöhnungen an starke Lösungen, Gifte, ferner das 10 Auftreten farbloser Formen bei höherer Temperatur mindestens zum großen Teile als Transformationen zu deuten sein; auf Spaltung beruhender Farbstoffverlust wird andererseits von BEIJERINCK (7) für *Bac. prodigiosus* angegeben; er züchtete drei Stämme von *Bacillus prodigiosus*, der eine verflüssigt Gelatine, der andere nicht und vergärt Kohlen- 15 hydrate, der dritte verflüssigt ebenfalls nicht und vergärt keine Kohlenhydrate, alle drei bilden ohne sichtbare äußere Veranlassung, durch Abspaltung, farblose Mutanden, die konstant sind. Daß auch bei Hefen unter bestimmten Bedingungen Spaltungen vorhanden sind, beobachtete E. CHR. HANSEN. Denn die *Carlsberg Unterhefe Nr. 1* bildet bei Zucht 20 auf Würzegelatine neben normalen, aus eiförmigen Zellen gebildeten Kolonien solche, die aus wurstförmigen Zellen bestehen. Diese übertragen ihre Form für eine Zeitlang auf ihre Nachkommen; erst nach einiger Zeit schlagen sie wieder zur eiförmigen Gestalt zurück. Die angeführten Beispiele zeigen bereits, daß durch Spaltungen sowohl dauernd 25 wie temporär erbliche Abweichungen entstehen können.

Sehr wichtig für die Entscheidung der Frage: „Spaltung oder Transformation?“ ist auch die Untersuchung der Asporogenie der Hefen geworden, welche ihren Ausgangspunkt von der Beobachtung E. CHR. HANSEN's nahm, daß *Saccharomyces Ludwigii* bei Züchtung auf verschiedenen Nähr- 30 substraten, zumal auf Würzegelatine, in alten Kulturen die Fähigkeit zur Sporenbildung verliert. Ob hier Spaltungserscheinungen oder Transformationen vorliegen, ist vorläufig noch unbekannt. Auch für die nun zu besprechenden BEIJERINCK'schen (5) Untersuchungen über die Asporogenie bei *Schizosaccharomyces* gilt, daß die Frage noch zu entscheiden ist, 35 inwieweit Spaltung und Transformation als bewirkende Ursachen ineinandergreifen. BEIJERINCK konnte schon makroskopisch sporenführende und sporenfreie Kolonieen dieser Spalthefe unterscheiden, z. B. an der Blaufärbung mit Jod und an der Verflüssigung von Gelatine, die nur bei Sporenbildung sich einstellt. Er glaubt hier gefunden zu haben, daß im 40 wesentlichen unabhängig von den Kulturbedingungen, d. h. aus spezifischen Gründen, Spaltungen in asporogene und in sporenbildende Zellen auftreten. Asporogene Zellen sollen weiterhin erblich und konstant nur wieder asporogene Zellen erzeugen, Sporen hingegen sowohl asporogene wie sporogene Zellen. Solche Spaltungen treten nach diesem Forscher 45 zweifellos auch dauernd in der freien Natur auf; wie denn auch schon DE BARY (1) mit Recht die Frage aufgeworfen hatte, warum wohl immer nur ein Teil aller zur Beobachtung gelangenden Zellen einer Hefenart Sporen bilde. Je nachdem nun eine Art bei der Spaltung mehr asporogene oder mehr sporenbildende Zellen hervorbringt, und zwar ist ersteres 50 bei *Sch. octosporus*, letzteres bei *Sch. Pombe* der Fall, wird bei wahlloser Uebertragung auf neue Böden die Neigung zur Sporenbildung ab- oder zunehmen. Dabei ist noch zu berücksichtigen, daß bei günstigen Lebensbedingungen asporogene Zellen den Sporen überlegen sind, weil sie schneller

wachsen. Tritt somit Beijerinck dafür ein, daß diese Erscheinungen durch Spaltung und nicht durch Transformation zuwege kommen, so zeigt doch seine eigene Angabe, daß niedere Temperatur und Erschöpfung des Nährbodens bei *Sch. octosporus* die Entstehung sporenloser Zellen begünstigen, gleichzeitig die transformierende Wirkung äußerer Bedingungen, sodaß die Frage erst noch durch eingehende experimentelle Untersuchungen zu klären sein wird. Vollkommen geklärt hingegen ist die Frage schon für die Asporogenie der *Weinhefe Johannisberg II* und zwar wiederum durch E. Chr. Hansen's eingehende Experimentaluntersuchungen. Nachdem dieser Forscher sich vergewissert hatte, daß in dem von ihm benutzten Ausgangsmateriale schlechterdings keine asporogenen Zellen sich befanden, konnte er nachweisen, daß unter dem Einflusse hoher Temperaturen sich nach und nach aller Zellen, die von dem Ausgangsmateriale abstammten, Asporogenie bemächtigte. Somit konnte Hansen zweifellos der Temperaturerhöhung einen transformierenden Einfluß zuschreiben. Immerhin setzt auch die von diesem Forscher untersuchte Asporogenie mit einer Spaltung ein, insofern die Temperaturerhöhung nicht alle Zellen zu derselben Zeit in konstant asporogene transformiert, sondern zunächst auch sporogene und temporär asporogene erhalten bleiben. Das Endergebnis der Hansen'schen Versuchsreihen war jedoch dies, daß endlich alle Zellen durch die fortgesetzte Zucht bei erhöhter Temperatur zu asporogenen transformiert werden, d. h. die Spaltung klingt schließlich infolge längerer Wirkung erhöhter Temperatur aus. Es ist also durch diese Untersuchungen nicht nur die Tatsache der Transformation erwiesen sondern auch ihr Gang ermittelt worden: die einen Zellen reagieren schneller, die anderen langsamer auf die Temperaturerhöhung mit Verlust der Fähigkeit zur Sporenbildung. Was nun den Hansen'schen Untersuchungen über konstant asporogene Formen eine besondere Bedeutung verleiht, ist dies, daß hier Fälle vorliegen, in welchen durch äußere Eingriffe die „spezifische Struktur“ verändert wird, in denen, um es etwas kraß zu sagen, äußere Einflüsse (hier: Temperaturerhöhung) aus einer Art eine andere hervorgehen lassen oder die, wie ein altes Schlagwort lautet, die Vererbung erworbener Eigenschaften zeigen. Allerdings handelt es sich hier nicht um ein positives Art-Merkmal sondern um ein negatives: Verlust einer Befähigung, wodurch aber der Fall nicht an Interesse verliert.

Neben Transformation und Spaltung (event. Mutation) können wir noch mit Beijerinck (7) eine besondere Art der Transformation unterscheiden, die **Degeneration,** die, wie die reine Transformation, alle Individuen einer Kultur ergreift, aber schließlich mit dem Tode derselben endigt. Hohe Temperatur, Ueberfluß an Nahrung, können Ursachen der Degeneration sein. Der Streptococcus der langen Wei degeneriert, falls ihm nicht die richtige Sauerstoffzufuhr gewährleistet wird. *Photobacterium degenerans,* ein von B. Fischer aus der See isolierter, häufiger Leuchtbazillus, degeneriert aus unbekannten Gründen. Wie kompliziert die Vorgänge bei der Degeneration liegen können, lehrt Beijerinck (2) durch seine Studien an *Bac. cyaneo-fuscus*: Gelatinekulturen dieses Spaltpilzes wachsen, wenn sie einige Zeit (10 Wochen) bei ca. 20° gehalten werden, nicht mehr weiter; nach Uebertragung in eine Lösung von Pepton in Leitungswasser findet wieder Wachstum statt, um aber auch hier nach einiger Zeit zu erlöschen. An Kulturen, die bei 10° oder bei noch niedrigerer Temperatur in Lösungen von Pepton in Leitungswasser gehalten werden, tritt eine solche Schwächung nicht ein.

Wie oben schon erwähnt, können nun solche Beeinflussungen des

Impfmaterials durch das Vorleben, wie wir sie eben kennen gelernt haben, Differenzen in den Befunden verschiedener Forscher erklären, die scheinbar mit ganz demselben Pilze und unter denselben Bedingungen gearbeitet haben. Die spezifische Struktur eines Organismus ist eben 5 nicht unwandelbar wie etwa die eines chemischen Elementes. Wenn dies nun auch unbedingt zuzugeben sein wird, so muß man doch andererseits BEHRENS (2) durchaus in der Forderung beistimmen, daß man Differenzen in den Resultaten verschiedener Forscher nur nach sorgfältigster Kritik und im Notfalle auf verschiedenartige Erbmasse des 10 scheinbar gleichartigen Versuchsmateriales zurückführen solle, da sonst allzu leicht Differenzen, die tatsächlich auf Versuchsfehlern oder falscher Deutung auf der einen oder anderen Seite beruhen, ihre Erklärung finden.

§ 81. Zur Technik von Ernährungsversuchen.

Da ein besonderer Abschnitt dieses Bandes der Besprechung der 15 Herstellung und Keimfreimachung von Nährböden und der Reinzüchtung von Gärungsorganismen gewidmet ist, beschränken wir uns an dieser Stelle darauf, einige technische Winke anzufügen, welche bei der Bearbeitung von Fragen betreffend den Stoffwechsel, wie wir sie im vorliegenden und im folgenden Kapitel behandeln, zu beachten sind.

20 Wir unterscheiden Nährböden von unbekannter und solche von mehr oder minder genau bekannter Zusammensetzung; die ersteren, seien sie nun aus organisierten Stoffen bereitet oder nicht, haben den Vorteil, daß sie oft Ernährungsbedingungen bieten, welche den Verhältnissen in der Natur näher kommen und somit insbesondere für anspruchsvolle Mikroben 25 von unersetzlicher Bedeutung sind. Das wirkliche Nährstoffbedürfnis ist andererseits natürlich nur an Nährböden mit genau bekannter Zusammensetzung, am besten solchen, die aus chemisch reinen Körpern hergestellt werden, zu ermitteln.

Die folgenden Ausführungen gelten nur diesen letzteren. Hier ist 30 in erster Linie daran zu erinnern, daß der Begriff der **chemischen Reinheit**, und also auch der der genau bekannten Zusammensetzung, ein sehr relativer ist. Körper, die für den einen Zweck als rein zu betrachten sind, genügen für den andern nicht. Das gilt schon für die leichter zu reinigenden Substanzen, etwa die meisten Nährsalze 35 (s. § 82), noch mehr aber für viele organische Körper, die zum Teil, wie etwa das „Pepton" des Handels, überhaupt nicht als reine und einheitliche Körper angesehen werden dürfen. Die Peptone stellen, wie bekannt, Gemische von Albumosen mit anderen Zersetzungsprodukten von Eiweißkörpern vor und haben außerdem einen sehr schwankenden Aschengehalt, 40 der unter Umständen nicht weniger als 10 Proz. beträgt. Es ist bei dieser Sachlage darauf zu halten, daß die Herkunft, Darstellung usw., der für die Nährböden benutzten Stoffe soweit als nötig angegeben wird. Beispiele dafür, daß verschiedene Peptonsorten verschiedene Wirkungen äußern, sind nicht selten, man vgl. z. B. die Angabe von BEIJERINCK (8), 45 daß für *Urobacillus* Pepton WITTE untauglich, Pepton CHAPOTEAU aber tauglich ist. Auch ist mehr als bisher üblich zu beachten, daß die Gelatine- und Agarpräparate von sehr wechselnder Zusammensetzung sein können (s. BEIJERINCK [8]), was bei deren häufiger Verwendung in der technischen Mykologie von großer Bedeutung ist. Jene Leser, welche 50 sich für diese Fragen interessieren, verweisen wir, außer auf den

folgenden Abschnitt, auch auf die ersten Kapitel bei Meyer (2). Auch auf die Reinheit des destillierten Wassers und auf die Widerstandsfähigkeit der Zuchtgefäße gegen lösende Einflüsse ist zu achten; wir verweisen zwecks Belehrung über diese Fragen auf die Arbeiten von Molisch (1) und Benecke (1, 2), bzw. auf die dort genannte physikalische und chemische Literatur. Inwieweit ferner die Luft, insbesondere die des Laboratoriums mit seinen Bunsenbrennern, als frei von Beimengungen zu betrachten ist, welche das Ergebnis der Versuche beeinflussen können, wird von Fall zu Fall zu beurteilen sei. Wie gefährlich es aber wäre, an solche Beeinflussungen nicht zu denken, das zeigen z. B. die lehrreichen Ausführungen Winogradsky's auf Seite 140 des III. Bandes. Auch ist an das Vorkommen von flüchtigen Stoffen in der Luft zu erinnern, welche noch unbekannter Natur, aber, wie Beijerinck und van Delden (2) zeigten, fähig sind, gewisse Bakterien (*Bac. oligocarbophilus*) mit den nötigen Kohlenstoffverbindungen zu versorgen; Näheres darüber im § 88 des folgenden Kapitels.

Ob man den Nährlösungen gelatinierende Mittel (Agar, Gelatine, Kieselsäure) zufügt oder nicht, ob man jene in poröse Unterlagen aufsaugen läßt, z. B. Filtrierpapier, Ton, Gipsblöcke oder Schwämme, welche letztere nach Falck (1) für Mucoreenzüchtung sehr geeignet sind, — das hängt vor allem von den Zwecken ab, welche durch die Züchtung verfolgt werden sollen, z. B. Reinzüchtung, und dann aber auch von der ökologischen Eigenartigkeit des zu prüfenden Organismus.

Wie dem im übrigen auch sei: alle Stoffe müssen dem Organismus in gelöster Form geboten oder durch diesen selbst in Lösung übergeführt werden, damit sie dem Stoffwechsel verfallen können. Dabei ist möglichst scharf auseinanderzuhalten, welche Veränderungen an den zur Herstellung der Nährlösung verwendeten Stoffen schon durch den Lösungsvorgang als solchen bewirkt werden, und welche sich erst unter dem Einfluß der Lebenstätigkeit an diese anschließen. Daran, daß dies insbesondere früher nicht immer in ausreichendem Maße geschehen ist, erinnern uns Ausdrücke, wie „Spaltung racemischer Körper“, die zwar auch heute noch praktisch wohl zu gebrauchen, aber tatsächlich unrichtig sind, weil der Pilz gar nicht die Spaltung bewirkt, sondern nur von den durch den Lösungsvorgang schon getrennten Stoffen den einen vorzugsweise verbraucht.

Bei **Verwendung von Salzen,** seien sie nun organischer oder anorganischer Natur, ist zu beachten, daß sie in wässeriger Lösung in einem (durch spezifische Unterschiede, Konzentration, Temperatur und Einfluß anderer gelöster Stoffe bedingten) mehr oder minder weitgehenden Maße in ihre Ionen **dissoziieren,** und daß diese letzteren mit anderen in der Lösung etwa gleichzeitig vorhandenen Ionen z. T. wieder zu Molekülen zusammentreten, und zwar in Mengenverhältnissen, welche durch das Massenwirkungsgesetz geregelt werden. Somit sind in einem Nährsalzgemisch alle Ionen der verwendeten Salze, sowie alle durch deren Kombination möglichen Moleküle vorhanden. Mit dieser Tatsache wird vielfach nicht gerechnet und es wird dann aus dem Ergebnisse eines Versuches mehr herausgelesen als statthaft ist. So wird nicht selten von einer „Zersetzung von Magnesiumsulfat“ durch den Pilz zwecks Assimilation des Magnesiums gesprochen, obwohl doch erst festzustellen wäre, ob das Ion Mg als solches oder aber kombiniert mit irgend einem anderen Anion dem Stoffwechsel verfällt. Ferner wird z. B. von einer Aufnahme des Kaliums aus organischer Bindung gesprochen, wenn

als Kaliumquelle weinsaures Kali dargeboten wurde. Und doch müßte auch hier erst nachgewiesen werden, daß das Kalium nicht etwa als Ion in die Zellen eintritt oder kombiniert mit einem anorganischen Anion der Nährlösung. Ganz klar ist darum, daß Ausdrücke, wie: Ammon-5 sulfat sei die beste Stickstoffquelle oder Magnesiumchlorid sei die beste Magnesiumquelle für einen Pilz, ziemlich nichtssagend sind, solange nicht die anderen, gleichzeitig gebotenen Stoffe angegeben werden.

Im einzelnen sind die **Dissoziationsverhältnisse** bei der Mannigfaltigkeit des Stoffgemisches, welches eine vollständige Nährlösung dar-10 stellt, nicht immer leicht zu übersehen. Es wäre noch an die stufenweise Dissoziation von Salzen mit mehrwertigen Ionen zu erinnern, wie auch an die etwaige Bildung von komplexen Salzen, während die Doppelsalzbildung bei den gewöhnlich in Betracht kommenden Konzentrationen wohl kaum eine Rolle spielt. Ferner muß auch an die hydrolytische 15 Dissoziation gedacht werden, die bewirkt, daß Lösungen von Salzen schwacher Säuren infolge eines Ueberschusses an Hydroxyl-Ionen alkalisch und von Salzen schwacher Basen wegen des Ueberschusses an Wasserstoff-Ionen sauer reagieren. Wir müssen uns hier mit diesen fragmentarischen Andeutungen begnügen und können das um so mehr, 20 als für allgemeine Stoffwechselfragen diese Lösungstheorien noch nicht allzuviel Bedeutung gewonnen haben; es ist das vielmehr erst von der Zukunft zu erhoffen. Um so wichtiger sind sie schon für enger umgrenzte Gebiete, z. B. das der Giftwirkungen, geworden; wir verweisen in dieser Beziehung auf das 19. Kapitel dieses Bandes. Bloß das Eine sei noch 25 erwähnt, daß gelegentlich auch der Nährwert von Salzen mit der elektrischen Dissoziation in Beziehung gesetzt wurde. Das geschah z. B. durch CZAPEK (1) bei der Diskussion des Nährwertes fettsaurer Salze und der Salze der Alkylamine; Näheres darüber im § 86 des folgenden Kapitels.

Treten wir nach diesen theoretischen Erörterungen der allgemein ge-30 haltenen Frage näher, wie eine Nährlösung für Pilze am besten zusammenzusetzen ist, so führen uns die ersten Antworten, wie wir der lehrreichen Darstellung von F. COHN (1) entnehmen, schon in die vierziger Jahre des vorigen Jahrhunderts zurück. Damals beobachtete DUJARDIN (1), daß Lösungen von Zucker, oxalsaurem und phosphorsaurem Ammon und 35 Kochsalz sich im Laufe einiger Tage mit einer weißen Bakterienhaut bedeckten, die aus „*Bact. termo*“ bestand, während in anderen Mischungen sich andere Bakterien entwickelten. Als eigentlicher Begründer der Lehre von der Ernährung der Pilze ist aber PASTEUR (1) zu betrachten, der im Jahre 1858 nachwies, daß die Hefe, ebenso wie höhere Pflanzen, 40 Aschensalze, hauptsächlich Phosphat, nötig hat, daß sie aus Ammon ihren Stickstoffbedarf zu decken versteht, und daß Zucker und Weinsäure als Kohlenstoffquellen dienen können. Einen wesentlichen Fortschritt bedeutete dann die Untersuchung A. MAYER's (1), welcher statt der Asche reine, genau gekannte Mineralsalze verwendete; Näheres darüber im 45 22. Kapitel. Schon PASTEUR hatte beobachtet, daß in der von ihm benutzten Lösung Bakterien häufig die Hefen überwuchern, und konnte so die Beobachtung DUJARDIN's (1) bestätigen, daß auch Bakterien ohne Eiweißkörper ihre Leiber aufzubauen vermögen. Im Anschlusse daran ist COHN's schon erwähnte Studie zu nennen, deren Lektüre wegen ihrer 50 klaren Darstellung, die die Wege der künftigen Forschung schon vorahnte, auch heute noch ein Hochgenuß ist. Es wurde ermittelt, daß *Bact. termo* noch besser gedeiht, wenn man den Zucker aus PASTEUR's Lösung wegläßt, es wurde der Wert verschiedener organischer Säuren

und anderer Kohlenstoffverbindungen als Kohlenstoffquelle ermittelt; es zeigte sich auch, daß der Stickstoff aus Ammon und Harnstoff und vielleicht auch aus Salpetersäure assimiliert werden kann. Wesentliche Unterschiede im Nährstoffbedürfnis anderer Bakterien waren COHN nicht bekannt; er hebt jedoch in einer für die damalige Zeit meisterhaften 5 Beschränkung hervor, daß seine Befunde nur für *Bact. termo* gelten, und daß erst spätere Forschung die Frage zu beantworten haben werde, ob andere Bakterien andere Ansprüche stellen.

Es kann nicht unsere Absicht sein, diese historische Skizze weiter zu führen; allbekannt ist, daß auf der so geschaffenen Grundlage das 10 durch den mehr oder minder friedlichen Wettstreit von Botanikern, Medizinern, Chemikern, Technikern errichtete stolze Gebäude der Ernährungsphysiologie der Pilze emporwuchs.

Fragen wir, nach welchen allgemeinen Grundsätzen seit den Tagen PASTEUR's Nährlösungen zusammengestellt werden, so bemerken wir, daß 15 man meistens die Nährstoffe in demselben gegenseitigen Mengenverhältnisse zu bieten trachtete, in welchem sie in dem zu züchtenden Organismus vorkommen und durch die Analyse ermittelt werden können. Es ist darum üblich, die Kohlenstoffverbindungen reichlich zur Verfügung zu stellen. An zweiter Stelle folgen die Stickstoffverbindungen, während 20 von Aschensalzen nur wenig zugefügt wird. Von diesen pflegen in den Nährlösungen, wie auch im Leibe der meisten Pilze, Kali und Phosphorsäure vorzuherrschen. Immerhin gilt die Annahme, daß diejenige Nährlösung für einen Pilz die beste ist, welche die Stoffe in möglichst demselben Verhältnisse enthält wie der Organismus selbst, keineswegs all- 25 gemein, so z. B. selbstverständlich nicht für solche Pilze, welche den freien Stickstoff oder die Kohlensäure zu assimilieren vermögen, auch nicht für viele Organismen, welche daran angepaßt sind, Stoffe, die sie in großer Menge brauchen, aus Lösungen von starker Verdünnung zu entnehmen usw. In weiterer Ausbildung einer von BEIJERINCK (9) ent- 30 wickelten Terminologie könnte man im letztgenannten Falle vielleicht von **Oligotrophophilie** sprechen (s. §§ 87 u. 88 des folgenden Kapitels). Oligotrophophil wären z. B. *Micrococcus aqueus, Bac. erythrosporus* u. a., die nach FLÜGGE (1, S. 40) mit den im destillierten Wasser vorkommenden Verunreinigungen vorlieb nehmen, ferner die in natürlichen Mineralquellen 35 lebenden Bakterien. Auch die an nahrungsarme Maischen angepaßten Bakterien der Schnellessigfabrikation würden vielleicht im Gegensatz zu denen der Weinessigbereitung als oligotrophophil bezeichnet werden können. Ferner dürfen hierher die eigenartigen, in reinen Lösungen organischer Säuren vorkommenden Mycelien gezählt werden, die in Hin- 40 sicht auf Zufuhr von Stickstoff und Nährsalzen außerordentlich genügsam sein müssen, so *Verticillium glaucum* in Citronensäurelösungen, *Citromyces* in Weinsäurelösungen nach WEHMER (4). Uebrigens kann erst die Zukunft zeigen, ob es sich empfiehlt, derartige unbestimmte und relative Bezeichnungsweisen, wie Oligotrophophilie, einzuführen. Man vgl. dazu 45 auch WINOGRADSKY (4).

In vielen Fällen ist man darauf angewiesen, durch Ausprobieren die günstigste Zusammensetzung des Nährbodens für einen gegebenen Pilz zu ermitteln. Anhaltspunkte, die dazu gegeben werden könnten, sind etwa die folgenden. Es ist eine tunlichst einfach zusammengesetzte 50 Lösung anzustreben, eine Forderung, die zwar schon F. COHN erhoben hat, die aber keineswegs allgemein befolgt wird, wie ein Hinweis auf die in Frankreich übliche RAULIN'sche Lösung für Schimmelpilze zeigt.

Ein zweiter Grundsatz ist der, niemals schematisierend vorzugehen, sondern vielmehr stets der weitgehenden ernährungsphysiologischen Spezialisierung sich bewußt zu bleiben. Ein dritter darum nicht unwesentlicher Grundsatz, der als Leitstern bei der Herstellung von 5 Nährlösungen dienen soll, ist der, die zu züchtenden Organismen an ihrem natürlichen Standorte zu beobachten; so kann mancherlei über die Nährstoffbedürfnisse ermittelt werden. Selbstverständlich ist dabei die dort ausschlaggebende Rolle des Kampfes ums Dasein nie zu vergessen. Hat man eine jenen Verhältnissen tunlichst nachgebildete, den 10 Pilz gut nährende Lösung erst ermittelt, so müssen sich weitere Züchtungsversuche zu dem Zwecke anschließen, zu ergründen, welche der verwendeten Stoffe als Nährstoffe, und welche lediglich als Kampfstoffe zu gelten haben.

Wenn es nicht darauf ankommt, das Nährstoffbedürfnis eines ge-15 gebenen Pilzes zu ermitteln, sondern gewünscht wird, Pilze von bestimmter Wirkungsart, etwa Wachstumsvermögen in stark konzentrierten Lösungen, Fähigkeit zur Assimilation des freien Stickstoffes etc., einzufangen, so leistet die **elektive Kultur** nach WINOGRADSKY oder, was gleichbedeutend ist, die „Anhäufungskultur“ nach BEIJERINCK gute 20 Dienste. Deren Grundsatz ist die Verwendung einer Nährlösung, in der sich nur solche Organismen entwickeln können, welche die betreffende Wirkungsart zu entfalten vermögen. Auch hierbei wird selbstverständlich immer durch darauf folgende Reinzüchtungen zu ermitteln sein, welche Stoffe in der elektiven Rohzucht als Nährstoffe und welche 25 als Kampfstoffe dienten.

Im allgemeinen wird man bestrebt sein, eine Nährlösung so zusammenzusetzen, daß deren Ausnutzung möglichst weit getrieben werden kann, und also dieser nicht durch Anhäufung von Stoffwechselprodukten u. ä. vorzeitig eine Grenze gesetzt wird. Nur dann, wenn 30 diese Forderung einigermaßen erfüllt ist, denn wirklich vollkommen ist sie nicht zu erfüllen, gilt für Pilze, wie für höhere Pflanzen, das **Gesetz des Minimums.** Dieses besagt, daß die Produktionshöhe einer Nährlösung von dem in minimo gebotenen Stoffe abhängig ist und durch gesteigerte Darbietung eines anderen nicht vergrößert werden kann. 35 Einige interessante Angaben darüber verdanken wir FALCK (1), der an Zuchten von *Sporodinia grandis* feststellte, daß bei geringer Peptonzugabe, etwa 0,2 Proz., eine übers Maß gesteigerte Traubenzuckerzufuhr das Erntegewicht nicht hebt, und daß umgekehrt auch der Traubenzucker ins Minimum gesetzt werden kann und dann die Entwicklung 40 der Menge dieses Stoffes proportional ist. So betrug z. B. die Ernte bei Zuchten, welche den Traubenzucker im Minimum, d. h. hohe Peptongaben, enthielten, bei Zufuhr von 1,25 g Traubenzucker 0,7 g, bei 2,5 g Traubenzucker 1,4 g u. s. f. Daran, daß solche Proportionen zwischen Pepton- und Traubenzucker-Gehalt allgemein bestünden, ist freilich 45 nicht zu denken. Viele Pilze können ihre Lösung regulatorisch umgestalten und durch Spaltung des Peptons und Verwertung des dabei gewonnenen Kohlenhydrates den Versuch, dieses ins Minimum zu setzen, vereiteln. Weiter können hier sekundäre Verhältnisse mitspielen; die Befähigung zu einer weitgehenden Peptonspaltung ist, wie wir oben 50 sahen, von der Befähigung des Pilzes abhängig, Stoffe zu bilden (Säuren), welche das reichlich entstehende Ammon unschädlich machen können. — Auch für Hefen liegen Angaben vor, welche das Walten des Gesetzes vom Minimum anzeigen. Man vergleiche darüber die Angaben von

Stern (1) und Thomas (1) nach denen die Menge des assimilierbaren Stickstoffs von der gebotenen Zuckermenge abhängt.

Einer allgemeinen Behandlung zugänglich ist die Frage nach der **chemischen Reaktion der Nährlösung.** Es soll darum in diesem Zusammenhange das Wichtigste darüber gesagt werden. Ein alter Lehrsatz lautet, daß Bakterien in neutraler oder schwach alkalischer, Sproß- und Schimmelpilze hingegen in saurer Nährlösung am besten gedeihen. Dieser Satz kann gefährlich werden, wenn er zum Dogma erstarrt. Schon Nägeli (1) konnte darauf hinweisen, daß oft die Säure für den Pilz nur insofern wichtig ist, als sie ihm den Kampf gegen Bakterien erleichtert. Später erwies dann z. B. Wehmer (4) an einer Anzahl von Reinzuchten von gewöhnlichen Schimmelpilzen, daß diese auch in schwach alkalischer Lösung gut gedeihen. Ueberhaupt verliert die Behauptung, daß Eumyceten in schwach saurer Lösung sich besser als in schwach alkalischer entwickeln, jede Berechtigung, sobald man seltener gezüchtete Pilze mit in Betracht zieht, so z. B. manche Basidiomyceten zufolge Brefeld (2), oder etwa Saprolegnien, die nach Klebs (3) schon durch 0,005 Proz. Weinsäure geschädigt werden, oder *Ascophanus carneus*, der nach Ternetz (1) gegen Säuren sehr empfindlich ist. Einige Angaben über spezifische Widerstandsfähigkeit verschiedener Schimmelpilze gegen Mineralsäuren verdanken wir Nikitinsky (1). Ihm zufolge hebt die Reihe *Aspergillus niger*, *Asp. flavus*, *Penicillium griseum*, *Pen. glaucum*, *Rhizopus nigricans*, (*Sacch. cerevisiae*) mit der widerstandsfähigsten Art an und schließt mit der empfindlichsten. In diesen Fällen handelt es sich wesentlich um die Konzentration der Wasserstoff-Ionen; aber es ist klar, daß in anderen Fällen nicht bloß der Säuerungsgrad sondern auch die Art der Säure, d. h. die Anionen, bzw. die undissoziierten Moleküle mitwirken. Nach Duclaux (1) sind Milch- und Buttersäure in freiem Zustande sehr schädlich für viele der gewöhnlichen Schimmelpilze. Auch nach Wehmer (11) verhindern Bruchteile eines Prozentes freier Buttersäure die Pilzentwicklung, während viele Bakterien selbst mit 1 Proz. davon sich noch abzufinden vermögen. Von Weinsäure, Citronensäure und Aepfelsäure wird, wofür ebenfalls Wehmer (1) einige Beispiele gibt, sehr viel vertragen; *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* wachsen vortrefflich auf Nährlösungen, die bis zu 10 Proz. dieser Säuren in freiem Zustand führen. Nach Nikitinsky (1) gedeiht *Aspergillus niger* sogar noch auf 30-proz. Lösungen von freier Weinsäure. *Citromyces* ist gegen Citronensäure in besonders hohem Maße unempfindlich; es ist dies ein Spezialfall der allgemeinen Regel, daß Organismen gegen die eigenen Produkte weniger empfindlich sind als gegen fremde (§ 75). Ein gutes Beispiel dafür, daß nicht bloß die Säuerung als solche sondern auch die Art der Säure von Einfluß ist, gibt der Befund von Maurizio (1), demzufolge die stark säureempfindliche *Saprolegnia* doch so viel Salicylsäure und Borsäure verträgt, daß sie durch einen Zusatz davon gegen Bakterien geschützt werden kann. Die Frage, warum bestimmte Pilze bei saurer Reaktion besser als bei alkalischer gedeihen, ist nur für wenige Fälle durchsichtig. Nach Butkewitsch (1) ist das bessere Gedeihen von *Rhizopus* auf saurer peptonhaltiger Lösung darauf zurückzuführen, daß die Säure das aus dem Pepton abgespaltene Ammon neutralisiert, d. h. die Ausnutzbarkeit des Peptons steigert.

Daß die Hefen ebenso wie viele Schimmelpilze bei schwach saurer Reaktion besser gedeihen als bei alkalischer, wurde oben schon betont. Auch hier erhebt sich die Frage, inwieweit das auch für Reinzuchten

gilt, und inwieweit etwa die Säure bloß als Kampfmittel gegen Bakterien wirkt. Einige Arten scheinen ganz besonders empfindlich und auf einen ganz bestimmten Säuerungsgrad abgestimmt zu sein; so wächst zufolge WILHELMI (1) der *Sacch. guttulatus* nur dann gut, wenn der Nährboden
5 einen Säuregehalt hat, welcher 0,5-proz. Salzsäure entspricht. Nähere Angaben sind im 19. Kapitel des II., im 6. Kapitel des IV. und im 11. Kapitel des V. Bandes zu finden. Die oben angeführte Regel, daß die Bakterien auf alkalischer Lösung besser als auf saurer wachsen, wird von vielen Ausnahmen gerade auf dem Gebiet technisch wichtiger
10 Spaltpilze durchbrochen. Bekannt ist z. B. für die Essigbakterien, daß sie sauren Nährböden von bestimmter Beschaffenheit angepaßt sind. Auch ein *Kumysbacillus*, den SCHIPIN (1) studierte, gedieh auf saurer Gelatine besser als auf alkalischer. Viele von den durch GOTTHEIL (1) rein gezüchteten aeroben Bodenbakterien ließen sich auf sauren Böden
15 einfangen und vermehren. Sehr empfindlich selbst gegen schwach saure Reaktion ist andererseits nach ELLIS (1) der *Micrococcus ureae*, von pathogenen, die hier kurz erwähnt seien, der Erysipelkokkus, während *Bac. anthracis* zufolge SCHLÜTER (1) auch auf sauren Böden gut gedieh. Manche Anaerobe sind, wie MATZUSCHITA (2) fand, gegen saure Reaktion
20 gleichfalls sehr empfindlich, vertragen andererseits aber relativ starke Alkalescenz des Nährbodens. Ueber die Frage, ob neutrale oder schwach alkalische Reaktion für gewisse Bakterien vorzuziehen sei, gibt ferner DEELEMAN (1) Auskunft. Es wuchsen nur *Bac. pyocyaneus* und *Bac. cyanogenus* besser auf neutraler, die andern, die er untersuchte, besser auf schwach
25 alkalischer Gelatine (ca. 1 Proz. Normal-Natronlauge). Besonders wichtig sind aber die Untersuchungen von A. FISCHER (1), welche den Einfluß der gleichzeitigen Ernährung genauer berücksichtigten. Auf Asparagin-Dextrose-Nährsalz-Lösung wuchsen *Bac. coli* und *Bac. pyocyaneus* gleich gut bei alkalischer wie bei saurer Reaktion, *Bac. typhi* und *Bac. subtilis*
30 weniger gut bei saurer Reaktion; gar nicht bei saurer (sehr gut bei alkalischer) der Cholerabazillus. Auf Glycerin-Chlorammon-Nährsalz-Lösung, einem Boden, der sich für die genannten Arten (ausschließlich *Bac. coli*) als minderwertig erwies, gediehen bloß *Bac. coli* und *Bac. subtilis* gleich gut bei saurer wie bei alkalischer Reaktion, *Bac. pyocyaneus* bei
35 alkalischer besser als bei saurer, der Cholerabazillus nur bei alkalischer gar nicht bei saurer, *Bac. typhi* schließlich weder bei alkalischer noch bei saurer Reaktion. Es verschiebt sich also die Empfindlichkeit gegen die Reaktion der Nährlösung wesentlich mit der Art der Ernährung.

Wir haben bisher von **dem Wert der Nährlösung** gesprochen, ohne
40 noch den Maßstab angegeben zu haben, an dem man denselben mißt. In den meisten physiologischen Arbeiten dient diesem Zwecke die Ermittelung der Höhe des Trockengewichtes der in einer bestimmten Zeit erreichten Ernte. Das schließt nicht aus, daß für bestimmte Fälle eine in diesem Sinne schlechte Nährlösung die günstigste sein kann, z. B. wenn
45 es auf das Studium bestimmter Fortpflanzungsorgane ankommt, oder auf die Ansammlung von Stoffwechselprodukten, die natürlich nicht immer mit üppigem Wachstum, d. h. hohem Trockengewicht, verbunden sind. In jenen Fällen, in denen man die Höhe des Trockengewichtes ermittelt, wird dadurch selbstverständlich nie die genauere chemische Analyse
50 oder mikroskopische Untersuchung überflüssig gemacht. Denn Höhe des Trockengewichtes kann auch auf anomale Wandverdickungen, krankhafte Speicherung von Reservestoffen usw. zurückzuführen sein. In solchen Fällen, die man mit LAFAR (4) als „Mästung" des Pilzes bezeichnen kann,

werden Höhe des Trockengewichtes und „Güte“ der Nährlösung nicht einander proportional sein. Richards (1) sagt, in solchen Fällen sei das „physiologische“ Optimum nicht identisch mit dem „biologischen“. „Biologisches“ Optimum allerdings ist ein keineswegs eindeutiger Ausdruck; man kann darunter sowohl lebhaftes vegetatives Wachstum als auch kräftige Fortpflanzung verstehen, die gar oft einander ausschließen. Kurz, der Ausdruck ist ebensowenig eindeutig zu definieren, wie der Zweck des Lebens selbst. In den Untersuchungen, in denen nicht bloß das Trockengewicht sondern auch noch der Gehalt an dem einen oder andern wichtigen Stoff, insbesondere dem Stickstoff, ermittelt und dessen Gehalt bei Berechnung der Produktionshöhe mit verwertet wurde, hat sich gezeigt, daß in gewissen Fällen Stickstoffgehalt und Trockengewicht eines und desselben aber unter verschiedenen Ernährungsbedingungen gehaltenen Pilzes einander proportional sind. Für viele Zuchten von *Aspergillus* mit wechselnder Stickstoffquelle fand dies z. B. Czapek (1). In anderen, zweifellos häufigeren Fällen gilt diese Proportionalität nicht, oder doch nicht streng. Es sei hier der Befund von Falck (1) erwähnt, daß man die Zygoten von *Sporodinia* je nach der Stickstoffzufuhr in verschiedenem Aussehen und mit verschiedenem (zwischen 25—42 Proz. schwankendem) „Protein“-Gehalt heranzüchten kann.

Vielfach ist es üblich, nach dem Vorgange Pfeffer's (3) den Wert einer Nährlösung an dem **„ökonomischen Koeffizienten“** zu messen, d. h. an der Zahl, die sagt, wieviel Gramm Pilztrockensubstanz auf 100 Gramm verbrauchte Nahrung (Kohlenstoffquelle) gebildet worden sind. So kann man die ökonomischen Koeffizienten und damit Nährwerte verschiedener Kohlenstoffquellen, die mit derselben Stickstoffquelle und denselben Nährsalzen geboten werden, untereinander vergleichen. Um ein paar Zahlen heranzuziehen, sei erwähnt, daß Pfeffer, für Züchtung auf 1—2-proz. Lösungen bei Zimmertemperatur und Beendigung des Versuches nach Heranwachsen einer vollständigen Pilzdecke nachfolgende Mittelwerte fand: für *Aspergillus niger*: Glycerin 20, Dextrose 43; *Penicillium glaucum*: Glycerin 15, Dextrose 33. Der letztgenannte Pilz arbeitet also weniger ökonomisch; für beide ist Dextrose ein besserer Nährstoff. Andererseits kann man auch den Wechsel des ökonomischen Koeffizienten ein und derselben Kohlenstoffquelle je nach den sonstigen Bedingungen, bei verschiedener Stickstoffzufuhr, Zusatz von Reizstoffen, Variation der Nährsalze, Konzentration, Temperatur usw., ermitteln. So haben wir oben schon angedeutet, daß der Pilz bei Zinkzusatz ökonomischer arbeiten kann, d. h. daß der ökonomische Koeffizient des Zuckers bei Anwesenheit dieses Reizmittels größer ist. Viele weitere Angaben finden sich bei Pfeffer (3), Kunstmann (1), Benecke (2), Czapek (1), Nikitinsky (1). Es sei in diesem Zusammenhang noch erwähnt, daß Falck (1) den ökonomischen Koeffizienten auch für Fälle ermittelte, in denen *Sporodinia* Sporangien bildete und ihn mit dem Koeffizienten der Zuchten in solchen Lösungen verglich, in denen Zygoten entstanden. Wie zu erwarten, war er verschieden und wurde größer, wenn der Pilz Zygoten bildete, als dann, wenn die Art der Nahrung die Sporangienbildung auslöste. Es bleibt zu untersuchen, inwieweit das damit zusammenhängt, daß die Zygoten dickere und schwerere Wände als die Sporangien haben, d. h. daß bei gleich viel lebender Masse das Gesamtgewicht der zygotenführenden Ernte größer ist.

Einer der vielen Faktoren, welche die Bestimmung des Nährwertes wesentlich erschweren, ist die **Zeitdauer** der Zucht. Je nachdem man die Entwicklung der Zuchten früher oder später abbricht, wird man ein ganz

verschiedenes Bild von der Produktion erhalten (s. auch RICHTER [1]). Es empfiehlt sich deshalb oft, eine größere Reihe von Versuchen anzusetzen und diese zu verschiedenen Zeiten zu verarbeiten. Man macht dann nicht selten die Erfahrung, daß das Trockengewicht nach einiger Zeit eine gewisse Höhe erreicht, von der es später wieder herabsinkt. Beachtenswert sind auch die folgenden Befunde NIKITINSKY's (1). Wenn man Zuchten des *Aspergillus niger* nach 3 Tagen abbricht, ergibt sich, daß eine 5-proz. Zuckerlösung besser ernährt hatte als eine 30-proz.; dauert aber der Versuch längere Zeit, so kehrt sich das Verhältnis um. Dasselbe zeigt ein Vergleich verschiedener Stickstoffquellen. Nach 6 Tagen betrug der ökonomische Koeffizient bei Salmiakzufuhr 21,5, bei Zufuhr von weinsaurem Ammon bloß 12,1. Als Durchschnitt mehrerer aufeinander folgender Reihen von Züchtungen aber ergab sich für Salmiak der Wert 19,1 für weinsaures Ammon hingegen 25, d. h. das Verhältnis hatte sich umgekehrt.

Man ersieht daraus, wie wenig die allgemein gehaltene Redewendung besagt, eine Nährlösung sei besser als eine andere.

Literatur

zum Kapitel Allgemeine Ernährungsphysiologie.

***Bachmann,** H., (1) Bot. Ztg., 1895, Bd. 53, S. 107. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1899, Bd. 34, S. 279. ***Ball,** Th., (1) Kunst- und Gewerbeblatt d. polyt. Vereins f. Bayern, 1857, S. 11. ***Banning,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 395. ***Barker,** B. T. P., (1) Phil. Trans. Royal Soc. London, Ser. B. 1901, Bd. 194, S. 467. ***Bary,** A. **de,** (1) Vergleichende Morph. u. Biol. d. Pilze u. Bakt., Leipzig 1884. — (2) Bot. Ztg., 1886, Bd. 49, S. 377. ***Baur,** E., (1) Kieler Wiss. Meeresuntersuch., 1901, N. F., Bd. 6, S. 11. ***Beauverie,** J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1901, Bd. 132, S. 226. ***Behrens,** J., (1) W. f. Brauerei, 1896, Bd. 13, S. 1802. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 514. ***Behring,** (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 6, S. 125. ***Benecke,** W., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. 38, S. 487. — (2) Bot. Ztg., 1. Abt., 1896, Bd. 54, S. 97. ***Beijerinck,** M. W., (1) Archives Néerlandaises des sc. exactes et nat., 1891, Bd. 14, S. 23. — (2) Bot. Ztg., 1891, Bd. 44, S. 705. — (3) K. Ak. van Wetenschapen te Amsterdam, 1893, S. 19. — (4) Arch. Néerl., 1894, Bd. 29, S. 1. — (5) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 657. — (6) Arch. Néerl. 1899, 2. sér., Bd. 2, S. 397. — (7) K. Ak. van Wetenschapen. 1900, S. 91. — (8) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 40. — (9) Ebenda, 1901, Bd. 7, S. 561. — (10) Ebenda, 1904, Bd. 11, S. 593. ***Beijerinck,** M. W., und **van Delden,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 3. — (2) Ebenda, 1903, Bd. 10, S. 33. ***Bockhout,** F. W. J., und **Ott de Vries,** J. J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S 497. ***Bonnier,** G., und **Mangin,** L., (1) Ann. des sc. nat., 1884, 6. sér., Bd. 18, S. 353. ***Bourquelot,** E., und **Hérissey,** H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1898, Bd. 127, S. 166. ***Brefeld,** O., (1) Flora, 1873, Bd. 56, S. 385. — (2) Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze I - IV. Leipzig 1857—1881; Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie VII XI. 1888—1895. — (3) Bot. Centralbl., 1896, Bd. 65, S. 97. ***Bruhne,** K., (1) Zopfs Beiträge z. Phys. u. Morph. nied. Organismen, 1894, Heft 4, S. 1. ***Buchner,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 1 ***Büsgen,** M., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1885, Bd. 3, S. 66. — (2) Bot. Ztg., 1893, Bd. 51, S. 53. ***Butkewitsch,** Wl., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1903, Bd. 38, S. 147. ***Chudjakow, N. von,** (1) Zur Lehre von der Anaerobiose. Moskau 1896 (Russisch); ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 389. ***Clark,** J. F., (1) Journ. of phys. chemistry, 1899, Bd. 3, S. 263. ***Clerfeyt,** Ch., (1) Bull. de l'Ac. Roy. de Belg., Classe des sciences, 1901, S. 337. ***Cohn,** F., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1870, Bd. 1, S. 127. ***Conn,** H. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1900, Bd. 24, S. 675. ***Costantin,** J., (1) Bulletin Soc. Mycol. de France, 1889, Bd. 5, S. 112. ***Czapek,** Fr., (1) HOFMEISTERS Beitr. z. chem. Phys. u. Path., 1902, Bd. 1, S. 538, Bd. 2, S. 547; 1903, Bd. 3, S. 47. ***Deeleman,** M., (1) Arch. Kais. Ges.-Amt, 1897, Bd. 13, S. 374. ***van Delden,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 11, S. 81. ***Detmer,** W., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1893, Bd. 11, S. 139. ***Diakonow,** N. W., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1886, Bd. 4, S. 1. — (2) Ebenda, 1887, Bd. 5, S. 115. ***Dubourg,** E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 128, S. 440. ***Duclaux,** E. P., (1) Ann. Pasteur, 1889, Bd. 3, S. 109. — (2) Traité de Microbiologie, 1899, Bd. 2, S. 84. ***Duggar,** B.

M., (1) Bot. Gazette, 1901, Bd. 31, S. 38. ***Dujardin,** F., (1) Histoire des infusoires, 1841, S. 264; cit. n. Cohn (1). ***Elfving,** Fr., (1) Studien über die Einwirkung des Lichtes auf Pilze. Helsingfors 1890. ***Ellis,** D., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 33, Orig., S. 1. ***Emmerling,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 273. ***Emmerling,** O., und **Reiser,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1902, Bd. 35, S. 1700. ***Engelmann,** Th., W., (1) Bot. Ztg., 1888, Bd. 46, S. 661. ***Errera,** L., (1) Bulletins de l'Ac. Roy. de Belg., 1899, S. 81. ***Eschenhagen,** F., (1) Ueber den Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen. Diss., Leipzig 1889. ***Fabre,** (1) Ann. des sciences nat., Bot., 4. sér., 1855, S. 191; cit. n. Pfeffer (4). ***Falck,** R., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1901, Bd. 8, S. 213. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 8, S. 307. ***Fermi,** C., (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 10, S. 13. — (2) Ebenda, 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 505. ***Fermi,** C., und **Montesano,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 482. ***Fernbach,** A., (1) Ann. Pasteur, 1890, Bd. 4, S. 641. ***Ferrán,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 24, S. 28. ***Fischer,** Alfr., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1894, Bd. 27, S. 163. — (2) Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl., Jena 1903. ***Fischer,** Bernh., (1) Z. f. Hyg., 1887, Bd. 2, S. 54. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 3, S. 105. — (3) Ergebnisse d. Plankton-Expedition d. Humboldtstiftung, Kiel 1894. ***Flügge,** C., (1) Die Mikroorganismen. 3. Aufl., Leipzig 1896. ***Forster,** J., (1) Nederl. Tijdschr. v. Geneeskunde, 1889, Bd. 2, Nr. 8. ***Forti,** C., (1) Bolletino di notizie agrarie, 1896, Bd. 18, S. 363. ***Fränkel,** A., (1) Z. f. Hyg., 1888, Bd. 5, S. 332. ***Frank,** A. B., (1) Die Krankheiten der Pflanzen. Breslau 1895. ***Freytag,** C. J. de, (1) Arch. f. Hyg., 1890, Bd. 11, S. 60. ***Gerber,** C., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 124, S. 167. ***Geret,** L., und **Hahn,** M., (1) Z. f. Biologie, 1900, Bd. 22, S. 117 (hier weitere Lit.). ***Godlewski,** E., (1) Bulletin de l'Ac. des sc. de Cracovie, cl. des sc. math. et nat., 1904, S. 115. ***Gottheil,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 430. ***Gräfenhan,** P., (1) Bacillus disciformis, ein Beitrag zur Kenntnis der Wasserbakterien. Diss. Halle 1891. ***Gran,** H. H., (1) Bergens Mus. Aarbog, 1901, Nr. 10, S. 1. ***Guignard,** L., (1) Comptes rend. de la Soc. de Biolog., 1890, Nr. 9. ***Hansen,** Adolf, (1) Flora, 1889, Bd. 47, S. 88. ***Hansen,** E. Chr., (1) Ann. of botany, 1895, Bd. 11, S. 549. — (2) Bot. Ztg., 1. Abt., 1897, Bd. 55, S. 111. — (3) Svenska Bryggareföreningens Manadsblad, 1897; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 89. — (4) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 1. — (5) Comptes rendus de Carlsberg, 1900, Bd. 5, S. 1. — (6) Ebenda, 1900, Bd. 5, S. 39. — (7) Ebenda, 1902, Bd. 5, S. 64. — (8) Ebenda, 1902, Bd. 5, S. 68. ***Heinze,** B., (1) Ref. in Bot. Centralbl., 1904, Bd. 95, S. 89. ***Henneberg,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 223. ***Hjort,** J., (1) Centralbl. f. Physiologie, 1896, Bd. 10, S. 192; cit. n. Butkewitsch (1). ***Holtermann,** K., (1) Mykologische Untersuchungen aus den Tropen; ref. in Bot. Ztg., 2. Abt., 1898, Bd. 56, S. 269. — (2) Annals Royal bot. gardens Peradenyia, 1902, Bd. 1, Teil 2; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 872. ***Horn,** L., (1) Ann. Mycolog. 1904. Bd. 2, S. 207. ***Hoyer,** D. P., (1) Bijdrage tot de Kennis van de Azijnbacterien. Dissert. Leiden 1898; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 867. ***Inui,** (1) Journ. of Coll. of science Tokyo, 1901, Bd. 15, S. 465. ***van Iterson,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 11, S. 689. — (2) Ebenda, 1904, Bd. 12, S. 106. ***Iwanow,** L., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 39, S. 31. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1904, Bd. 22, S. 202. ***Iwanowski,** D., (1) Cit. n. Godlewski (1). ***Jahn,** E., (1) Bot. Ztg., 2. Abt., 1904, Bd. 62, S. 171. ***Janczewski,** E. v., Bot. Ztg. 1871, Bd. 29, S. 257. ***Jentys,** G., (1) Arb. a. d. Bot. Inst. Tübingen, 1888, Bd. 3, S. 419. ***Jost,** L., (1) Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Jena 1904. ***Jumelle,** (1) Rev. gén. de bot., 1892, Bd. 4, S. 269. ***Kanter,** R. M., (1) Ueber die Wirkung der Salze einiger Schwermetalle auf das Wachstum und die chemische Zusammensetzung des Aspergillus niger. Diss. St. Petersburg 1903. ***Kappes,** H. C., (1) Analyse der Massenkulturen einiger Spaltpilze u. der Soorhefe. Diss. Tübingen 1890. ***Katz,** J., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 31, S. 533. ***Katz,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 9, S. 157. ***Mac Kenney,** (1) Proc. biol. Soc. Washington, 1902, Bd. 15, S. 213; cit. n. Pfeffer (2). ***Keutner,** J., (1) Kieler Wiss. Meeresuntersuchungen, 1904, N. F., Bd. 8, S. 1. ***Kitt,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1895, Bd. 17, S. 168. ***Klebahn,** H., (1) Die wirtswechselnden Rostpilze. Berlin 1904. ***Klebs,** G., (1) Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 32, S. 1. — (3) Ebenda, 1899, Bd. 33, S. 513. — (4) Ebenda, 1900, Bd. 35, S. 80. — (5) Bot. Ztg., 2. Abt., 1902, Bd. 60, S. 177. — (6) Willkürliche Entwicklungsänderungen. Jena 1903. — (7) Biol. Centralbl. 1904, Bd. 24, S. 462. ***Klöcker,** A., (1) Die Gärungsorganismen. Stuttgart 1900. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 58. — (3) Hedwigia, 1902, Bd. 41, S. 80. — (4) Comptes rendus de Carlsberg, 1903, Bd. 6, S. 92. ***Klöcker,** A., und **Schiönning,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 505. ***Kolkwitz,** R., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 33, S. 128. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 670. — (3) Ber.

d. Deutsch. Bot. Ges., 1903, Bd. 21, S. 247. — (4) Mitt. d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorgung etc., 1903, Bd. 2, S. 34. ***Kosinski,** J., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1902, Bd. 37, S. 137. ***Kossowicz,** A., (1) Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen Oesterreichs, 1903, Bd. 6, S. 27. ***Kostytschew,** S., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1902, Bd. 20, S. 327. ***Krabbe,** G., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1890, Bd. 21, S. 520. ***Kuester, von,** (1) Arch. f. klin. Chirurgie, 1900, Bd. 60, S. 621. ***Kulescha,** G., (1) Bericht des landwirtsch.-bakt. Lab. am Minister. d. Agrik. z. St. Petersburg 1899, ref. in Kochs Jahresbericht, 1901, Bd. 12, S. 104. ***Kunstmann,** H., (1) Das Verhältnis zwischen Pilzernte und verbrauchter Nahrung, Diss., Leipzig 1895. ***Lafar,** F., (1) Arch. f. Hyg., 1891, Bd. 13, S. 1. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 129. — (3) Landw. Jahrbücher, 1895, Bd. 24, S. 445. — (4) Technische Mykologie, 1. Aufl., 1901, Bd. 2, S. 402. ***Laurent,** E., (1) Ann. Pasteur, 1888, Bd. 2, S. 603. ***Lepoutre,** L., (1) Bull. Ac. belg. des sc., 1902, S. 155. ***Lesage,** P., (1) Note sur l'influence du substratum dans la germination des spores de Penicillium. Trav. scientif. de l'Univ. de Rennes, 1902, Bd. 1, S. 171; ref. in Bot. Centralbl., 1904, Bd. 95, S. 371. ***Lewandowsky,** (1) Arch. f. Hyg., 1904, Bd. 49, S. 47. ***Liborius,** P., (1) Z. f. Hyg., 1886, Bd. 1, S. 115. ***Liesenberg,** C., und **Zopf,** W., (1) Zopfs Beiträge z. Phys. u. Morph. nied. Organismen, 1892, Heft 1, S. 1. ***Lind,** K., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 32, S. 603. ***Lindner,** P., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1887, Bd. 5, S. 153. — (2) Die Sarcinaorganismen der Gärungsgewerbe, Diss., Berlin 1888. — (3) W. f. Brauerei, 1898, Bd. 15, S. 209. ***Linossier,** G., und **Roux,** E., (1) Arch. de médec. exp., 1890, Bd. 2, S. 62. ***Loewenthal,** W., (1) Arch. f. Protistenkunde, 1903, Bd 2, S. 366. ***Lutz,** L., (1) Ann. des sc. nat., Bot., 1898, 7. sér., S. 111. ***Maassen,** A., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1901, Bd. 18, S. 21. ***Malfitano,** (1) Ann. Pasteur, 1900, Bd. 14, S. 60. ***Marchal,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 753. ***Massart,** (1) Arch. de biol., 1889, Bd. 9, S. 547. ***Matzuschita,** T., (1) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 35, S. 494. — (2) Arch. f. Hyg., 1903, Bd. 43, S. 267. — (3) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1900, Bd. 28, S. 303. ***Maurizio,** A., (1) Flora, 1896, Bd. 87, S. 14. ***Maximow,** N. A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 193. ***Mayenburg,** H. von, (1) Jahrb. wiss. Bot., 1901, Bd. 36, S. 213. ***Mayer,** Ad., (1) Landw. Versuchsstationen, 1869, Bd. 15, S. 443. — (2) Untersuchungen über die alkohol. Gärung. Heidelberg 1871. ***Meißner,** R., (1) Landw. Jahrbücher, 1901, Bd. 30, S. 156. ***Meyer,** Arthur, (1) Flora, 1899, Bd. 86. S. 428. — (2) Praktikum der botanischen Bakterienkunde, Jena 1903. ***Möller,** Alfr., (1) Die Pilzgärten einiger südamerikanischen Ameisen. Schimpers Bot. Mitt. a. d. Tropen, Jena 1893, Heft 6. ***Molisch,** H., (1) Sitzb. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien, math.-nat. Kl., 1894. Bd. 103, I, S. 554. — (2) Leuchtende Pflanzen, Jena 1904. ***Müller-Thurgau,** H., (1) Landw. Jahrbücher, 1888. Bd. 12, S. 128. ***Nägeli,** C. **von,** (1) Botanische Mitteilungen. III, 1879. — (2) Untersuchungen über niedere Pilze, 1882. — (3) Z. f. Biologie, 1882, Bd. 18, S. 543. ***Nathansohn,** A., (1) Mitt. d. zoolog. Stat. Neapel, 1902, Bd. 15, S. 655. ***Neger,** F. W., (1) Flora, 1901, Bd. 88, S. 333. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 90, S. 221. ***Nikitinsky,** J., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1904, Bd. 40, S. 1. ***Nordhausen,** M., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1899, Bd. 33, S. 1. ***Omelianski,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 193. ***Ono,** N., (1) Journ. Coll. of science Tokyo, 1900, Bd. 13, S. 141. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 154 ***Osborne,** A., (1) Arch. f. Hyg., 1890, Bd. 11, S. 51. ***Osterwalder,** A., (1) Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1903; cit. n. Centralbl. f. Bakt, 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 486. ***Pantanelli,** E., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1904, Bd. 40, S. 303. ***Pasteur,** L, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1858, Bd. 46, S. 617. — (2) Ebenda, 1860, Bd. 51, S. 298. — (3) Ann. de chim. et de phys., 1860, 3. sér., Bd. 58, S. 323. — (4) Comptes rend. de l'Ac., 1861, Bd. 52, S. 1260. ***Petterson,** A., (1) Arch. f. Hyg., 1900, Bd. 37, S. 171. ***Pfeffer,** W., (1) Arb. a. d. Bot. Institut Tübingen, 1885, Bd. 1, S. 655. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. 28, S. 206. — (3) Sitzgsber. d. K. Sächs. Ges. d. Wiss., mathem.-phys. Kl., 1896, S. 513. — (4) Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Leipzig 1897—1904. ***Prove,** O., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1887, Bd. 4, S. 409. ***Pulst,** K., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1902, Bd. 37, S. 205. ***Puriewitsch,** K., (1) Schriften d. Ges. d. Naturf. zu Kiew, 1890, Bd. 11, S. 211; ref. in Bot. Centralbl., 1891, Bd. 3, S. 130. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1898, Bd. 16, S. 290. — (3) Schriften d. Ges. d. Naturforscher zu Kiew, 1899, Bd. 16. — (4) Jahrb. wiss. Bot, 1900, Bd. 35, S. 573. ***Rabinowitsch,** L., (1) Z. f. Hyg., 1895, Bd. 20, S. 154. ***Raciborski,** M., (1) Flora, 1896, Bd. 82, S. 107. ***Raulin,** J., (1) Ann. des sciences nat., Bot., 1869, 5. sér., Bd. 11, S. 93. ***Reess, M.,** (1) Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze, Leipzig 1870. ***Reinhardt,** M. O., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1892, Bd. 23, S. 479. ***Reinke,** J., (1) Einleitung in die theoretische Biologie, Berlin 1901. ***Richards,** H. M., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1897. Bd. 30, S. 665. ***Richet,** Ch., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1892, Bd. 114, S. 1494. ***Richter,** A., (1) Centralbl f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 417. ***Ritter,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 206. ***Ritter,** H., (1) Flora, 1899, Bd. 86, S. 329. ***Rothenbach,** (1) Z. f. Spiritusindustrie, 1895, Bd. 18, S. 26. ***Rothert,**

W., (1) Bot. Ztg., 1892, Bd. 50, S. 321. ***Russell,** H. L., (1) Z. f. Hyg. 1891, Bd. 11, S. 167. ***Samkow,** S., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 11, S. 305. ***Schipin,** D., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 775. ***Schittenhelm,** A., und **Schröter,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 35, Orig., S. 146. ***Schlüter,** C., (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 11, S. 89. ***Schmidt,** R. H., (1) Flora, 1891, Bd. 74, S. 300. ***Schmidt-Nielsen,** S., (1) Biol. Centralbl., 1901, Bd. 21, S. 65. ***Schostakowitsch,** W., (1) Flora, 1895, Bd. 81, S. 362. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1896, Bd. 14, S. 260. — (3) Flora, 1897, Bd. 84, S. 88. ***Schreiber,** O., (1) Centralbl, f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 20, S. 353. ***Schulz,** Hugo, (1) Pflügers Archiv, 1888, Bd. 42, S. 517. ***Shibata,** K., (1) Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path., 1904, Bd. 5, S. 384. ***Smith,** Th., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 18, S. 1. ***Stadler,** E., (1) Arch. f. Hyg., 1899, Bd. 35, S. 40. ***Stephanidis,** Ph., (1) Arch. f. Hyg., 1899, Bd. 35, S. 1. ***Stern,** A. L., (1) J. federated Inst. Brewing, 1902, Bd. 8, S. 690. ***Stevens,** F. L., (1) Bot. Gazette, 1898, Bd. 26, S. 377. ***Tanret,** C., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 123, S. 948. ***Ternetz,** Ch., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1900, Bd. 35, S. 273. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1904, Bd. 22, S. 261. ***Thibaut,** Fr., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 743. ***Thomas,** P., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1901, Bd. 133, S. 312. ***Trow,** A. H., (1) Annals of bot., 1901, Bd. 15, S. 269. ***Townsend,** C. O., (1) Bot. Gazette, 1900, Bd. 27, S. 458. ***Tubeuf,** C. Freiherr **von,** (1) Pflanzenkrankheiten, Berlin 1895. ***Vines,** S. H., (1) Annals of bot. 1904, Bd. 18, S. 289. ***Ward,** H. M., (1) Proceed. Royal Soc. London, 1889/90, Bd. 47. — (2) Annals of botany, 1897, Bd. 11, S. 339. — (3) Philos. Transact., 1899, Bd. 191, S. 278. ***Wehmer,** C., (1) Bot. Ztg., 1891, Bd. 49, S. 233. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1891, Bd. 9, S. 163. — (3) Jahresber. d. Naturf. Ges. Hannover, 1892, S. 99. — (4) Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze, I, 1893; II, 1895. — (5) Chem.-Ztg., 1895, Bd. 19, S. 2088. — (6) Chem.-Ztg., 1897, Bd. 21, S. 1022. — (7) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 102. — (8) Ebenda, 1897, Bd. 3, S. 209. — (9) Ebenda, 1900, Bd. 6, S. 610. — (10) Z. f. Spiritusindustrie, 1901, Bd. 24, S. 137. — (11) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1903, Bd. 21, S. 67. ***Weidenbaum,** A., (1) Arb. d. St. Petersburger Naturf. Ges., 1891, S. 26. ***Went,** F. C., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1901, Bd. 36, S. 611. ***Werner,** C., (1) Die Bedingungen der Konidienbildung bei einigen Pilzen, Diss., Basel 1898. ***Wieler,** A., (1) Arb. a. d. Bot. Instit. Tübingen, 1883, Bd. 2, S. 189. ***Wilhelmi,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 305. ***Will,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 93. ***Wilson,** G., (1) Flora, 1882, Bd. 40, S. 93. ***Winogradsky,** S., (1) Bot. Ztg., 1887, Bd. 45, S. 489. — (2) Ebenda, 1888, Bd 46, S. 261. — (3) Arch. des sciences biol. publ. p. l'Inst. Imp. de méd. exp. de St. Pétersbourg, 1895, Bd. 3, S. 297. — (4) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 43. ***Woronin,** M., (1) Mém. de l'Ac. Imp. des sciences St. Pétersbourg, Cl. phys.-math., 1900, 8. sér., Bd. 10, Nr. 5; ref. in Bot. Ztg., 2. Abt., 1901, Bd. 58, S. 5. ***Wortmann,** J., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1882, Bd. 6, S. 287. — (2) Ber. d. K. Lehranstalt Geisenheim für 1900—1901, S. 92. — (3) Weinbau und Weinhandel, 1902, S. 1. ***Zopf,** W., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1889, Bd. 7, S. 94. — (2) Beiträge z. Phys. u. Morph. nied. Organismen, Leipzig 1892.

(*Manuskript-Einlauf: 4. August 1904.*)

14. Kapitel.

Spezielle Ernährungsphysiologie: Die einzelnen Nährstoffe.

Von Prof. Dr. W. Benecke.

§ 82. Alkalien.

Die ernährungsphysiologische Bedeutung bestimmter Aschensalze, der Sulfate und Phosphate, ist wenigstens insoweit bekannt, als man weiß, daß sie dem Pilze Elemente zuführen, die in die Konstitution der lebenden Substanz, der Eiweißkörper und anderer komplizierter organischer Verbindungen, eintreten. Für andere durch die Nährsalze

zugeführte Stoffe, z. B. das Kalium, das Magnesium usw., gilt aber, daß ihre Bedeutung noch in tiefstes Dunkel gehüllt ist. Es ist unbekannt, ob sie zur Bildung von Baustoffen herangezogen werden, was immerhin wahrscheinlich ist, oder ob sie auf andere Weise dem Leben
5 dienstbar sind. Nach einigen Befunden ist es nicht unmöglich, daß das Studium der Enzymwirkungen zunächst dazu berufen ist, weitere Aufklärung zu bringen.

Zum Verständnisse des heutigen Standes unserer Kenntnisse vom Bedürfnis der Pilze an Aschensalzen ist es nötig, sich daran zu erinnern,
10 daß die Untersuchungen meist an die Ergebnisse anknüpften, die an „Wasserkulturen" höherer, chlorophyllhaltiger Pflanzen gewonnen worden waren. Wir müssen darum in diesem und den folgenden Paragraphen wenigstens mit ein paar Worten darauf hinweisen, wie sich grüne Pflanzen den Mineralsalzen gegenüber verhalten. Da ist nun für die
15 Alkalisalze bekannt, daß von solchen ganz allgemein Kaliumsalze benötigt werden und nicht durch andere Alkalisalze vertreten werden können. Die einzige gegenteilige Angabe stammt von Benecke (4) her, der für eine Cyanophycee (*Oscillaria spec.*) ein gleich gutes Wachstum auch für den Fall erweisen konnte, daß das Kalium der Nährlösung durch Natrium
20 ersetzt wurde. Zwar bedarf dieser Befund noch der Bestätigung, ehe er als sicher hingestellt werden kann; er mag aber doch wegen des nahen Verwandtschaftsverhältnisses der Cyanophyceen mit manchen Bakterien hier erwähnt werden.

Wir wenden uns nun den Pilzen zu, um vor allem festzustellen,
25 daß in diesen das Kalium sehr häufig zusammen mit Phosphorsäure angetroffen wird, woraus man auf eine funktionelle Verknüpfung beider schließen könnte. Doch ist Zuverlässiges darüber nicht zu sagen. Wir müssen uns darum in diesem Paragraphen darauf beschränken, einerseits Erscheinungen, die bei Kalimangel eintreten, und andererseits forma-
30 tive Wirkungen, die durch wechselnde Kaligaben bewirkt werden, zu verzeichnen, und der Frage nachzugehen, ob das Kalium im Stoffwechsel durch verwandte Elemente vertreten werden kann.

Dafür, daß das **Kalium** für **Schimmelpilze** unentbehrlich sei, ist schon Loew in seinen durch Nägeli (1) veröffentlichten Versuchen ein-
35 getreten. In einer alkalifreien Nährlösung, die als Kohlenstoffquellen Zucker und Weinsäure enthielt, entwickelte sich *Penicillium* nur sehr wenig. Das Bild änderte sich nicht, wenn ein Natriumsalz zugefügt wurde. Der Ertrag wurde jedoch beträchtlich, fast um das Dreifache gesteigert, wenn Kalium oder Rubidium geboten wurde. Die
40 Alkalien waren in dieser Versuchsreihe als saure Tartrate geboten worden, und zwar 1,4 Proz. vom Natriumsalz, bzw. äquivalente Mengen von den anderen Alkalisalzen. Die chemische Analyse zeigte, daß die kaliumhaltigen und die rubidiumhaltigen Zuchten etwas mehr Stickstoff (5 Proz.) aufwiesen als die anderen (4 Proz.). Ein weiterer Versuch mit
45 *Penicillium*, welchem nun Glycerin und Essigsäure als Kohlenstoffquellen zur Verfügung standen, lieferte ein ähnliches Ergebnis; das Natrium war ganz untauglich, das Kalium zu ersetzen, ja es wirkte sogar etwas hemmend. Umgekehrt übertraf die Ernte der rubidiumhaltigen Zuchten die der kaliumhaltigen. Auch die Zuchten mit Cäsium, das in diesem
50 Versuch ebenfalls geprüft wurde, ergaben eine höhere Ernte als die mit Kaliumsalzen beschickten. Dieser gute Erfolg des Ersatzes von Kalium durch Rubidium oder Cäsium erklärt sich nach späteren Erfahrungen vielleicht dadurch, daß die Alkalisalze in dieser Versuchsreihe nur in

einer halb so starken Konzentration wie in der zuerst angeführten angewendet wurden. Auch einige formative Wirkungen der Alkalien erwähnt NÄGELI. Bei Mangel an Kaliumsalzen war die Pilzmasse anomal ausgebildet, zähe, schwer zerreibbar. — Das Lithium erwies sich in den Versuchen NÄGELI's als ganz untauglich, das Kalium zu vertreten. 5

Die durch NÄGELI und LOEW in Angriff genommene Frage von der Notwendigkeit des Kaliums, bzw. dessen Vertretbarkeit durch verwandte Elemente wurde später durch BENECKE (1—3), WEHMER (2, 3), GÜNTHER (1) und LOEW (7) wieder aufgenommen. Versuchspilze waren hauptsächlich *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*; aber auch einige andere 10 Schimmelpilze wurden mit einbezogen. Zuchten, in denen entweder überhaupt keine Alkalisalze oder doch nur solche des Ammoniaks vorhanden waren, zeigten, in Bestätigung der Befunde NÄGELI's, das Wachstum stets außerordentlich beeinträchtigt. Es konnte aber meistens selbst bei sorgfältigst versuchtem Ausschluß aller Fehlerquellen nicht 15 ganz unterdrückt werden. Es sind genauere Untersuchungen darüber erwünscht, inwieweit die Beschaffenheit der Nährlösung ein mehr oder minder weitgehendes Wachstum ohne Alkalisalze erlaubt. In dieser Beziehung konnte BENECKE (2) feststellen, daß insbesondere in schwach alkalischen rohrzuckerhaltigen Nährlösungen das Wachstum fast gleich 20 Null ist, was für eine Beteiligung von Kalisalzen an der Inversion des Zuckers spricht.

Besonders auffallend und häufig bemerkt wird die Neigung zum Ausbleiben jeglicher Fruchtbildung in kalifreien Zuchten. Ob diese Erscheinung eine unmittelbare Folge des Kalimangels ist, d. h. ob die 25 Konidien besonders viel Kaliverbindungen zu ihrem Aufbau brauchen, oder ob eine mittelbare andere Wirkung irgend welcher Art vorliegt, ist unbekannt.

Ueber die hier sich aufdrängende Frage, ob das geringe ohne Kaligabe stattfindende Wachstum tatsächlich bei Abwesenheit dieses Ele- 30 mentes sich abgespielt hat, oder ob geringe Verunreinigungen, entweder aus den anderen Nährstoffen oder aus der Glaswand usw. stammend, den Erfolg herbeigeführt haben, ist Einigung zwischen den verschiedenen Forschern noch nicht erzielt worden. Für die schon von NÄGELI ausgesprochene Meinung, daß es sich um geringe Verunreinigungen mit 35 Kalium handele, trat u. a. auch BENECKE ein, und zwar auf Grund der folgenden Erfahrungen: Schon sehr geringe Kaliumsalzzusätze sind geeignet, das Wachstum wesentlich aufzubessern. Während in einer Zucht ohne absichtliche Kalizufuhr das Trockengewicht 0,0025 g betrug, lieferte eine Zucht in Rohrzucker-Ammon-Nährsalz-Lösung mit Zugabe 40 von 0,00003 Proz. Kaliumchlorid eine Ernte von 0,039 g. In einem anderen Versuch, in dem sich ohne absichtliche Kaligabe ziemlich viel (0,2 g) entwickelt hatte, führte der Zusatz von 0,1 mg Kaliumsulfat zu einer Verdoppelung der Ernte. Dies gilt für *Aspergillus niger*. Zu ähnlichen Ergebnissen kam GÜNTHER bei Mucoreen. Auch stellte er fest, 45 daß 0,001 Proz. Kaliumchlorid bei *Rhizopus nigricans* und *Mucor corymbifer* genügen, um Sporenbildung hervorzurufen, die bei geringerer Kaliumgabe ausblieb. Beachtenswert sind auch einige durch GÜNTHER und durch BENECKE (3) gemachte Angaben betreffend die Möglichkeit einer aus der Löslichkeit des Glases herrührenden Fehlerquelle. In einem 50 Versuche des letztgenannten mit *Aspergillus niger* hatte sich in einer vollständigen (0,2 Proz. Kaliumchlorid führenden) Nährlösung ein Ernte-Trockengewicht von 0,33 g, in kaliumfreien Zuchten, die in kalium-

haltigen Glasgefäßen angelegt waren, in derselben Zeit ein solches von 0,16 bis 0,32 g, und in kaliumfreien Nährlösungen in Gefäßen aus vollkommen kaliumfreiem Jenaer Glas ein solches von nur 0,02 g ergeben. Die letztere Zucht war außerdem steril, die anderen hingegen wiesen 5 konidientragende Decken auf. Zusatz von etwas Kaliumsalz zu sterilen, in Jenaer Glas auf kaliumfreien Lösungen herangezüchteten Decken hatte alsbald das Eintreten von Konidienbildung zur Folge, was zeigt, daß tatsächlich der Unterschied zwischen Zuchten in Gläsern verschiedener Beschaffenheit darauf zurückzuführen ist, daß die einen 10 etwas Kali an die Lösung abgeben. Es ist also für solche Versuche die Verwendung von besonders widerstandsfähigen, kaliumfreien Gläsern mindestens sehr empfehlenswert. Erwägt man behufs richtiger Deutung dieser Ergebnisse weiter, daß selbst bei Weglassen von Stickstoffverbindungen, die doch vom Pilze in viel größerer Menge gebraucht 15 werden als solche des Kaliums, doch immer noch ansehnliche Pilzmassen gewonnen werden können, falls nicht auf ganz außerordentlich sorgfältigen Ausschluß jeglicher Verunreinigungen geachtet wird, so kann man die Meinung, daß in den oben genannten Versuchen geringe Kaliummengen wirksam gewesen seien, keineswegs ohne weiteres abweisen. 20 Bestritten wird die Richtigkeit dieser Meinung von Wehmer (2), welcher annimmt, daß tatsächlich ohne Kaliumsalze ein (wenn auch sehr verlangsamtes) Wachstum statthabe. Immerhin wird man solche Annahmen nur auf Grund der Ergebnisse von Versuchen machen dürfen, welche die oben genannten Fehlerquellen voll berücksichtigen. 25 Wie nun aber die Entscheidung später auch fallen möge, die Frage ist für die Mykologie mehr von theoretischem als von praktischtechnischem Interesse, weil ja die große Minderwertigkeit kaliumfreier Nährlösungen feststeht und auch darin sich ausspricht, daß diesen für Schimmelpilze ganz allgemein Kaliumsalze zugefügt werden. 30 Ob andere als die wenigen oben genannten, auf ihren Bedarf an Kalium untersuchten Schimmelpilze sich anders verhalten, etwa mit Kalium ebenso gut wie ohne dieses wachsen, ist noch nicht untersucht.

Die Lage des Optimums und des Maximums der Kaliumzufuhr wird sich ganz nach den sonstigen Versuchsbedingungen richten. In vielen 35 Fällen dürfte die Produktionskurve kein scharf ausgeprägtes Optimum aufweisen, sondern sehr flach verlaufen. Wenigstens fand Benecke (2) in einem Versuche mit *Aspergillus niger*, daß das in einer Nährlösung von Glycerin, Ammoniumphosphat und den sonstigen Nährsalzen erzielte Trockengewicht von 0,2 g bei minimalem Zusatz von Kaliumsulfat all-40 mählich bis zu etwa 1,2 g bei Zusatz von 0,02 Proz. anstieg, und daß eine weitere Steigerung bis zu 5 Proz. die Größe der Ernte nicht mehr veränderte. In betreff des Maximums sei zunächst an die im § 76 wiedergegebenen Zahlen Eschenhagen's (1) erinnert und weiter noch erwähnt, daß, wie Günther festgestellt hat, *Rhizopus nigricans* nicht 45 fruktifiziert, wenn der Gehalt des Nährbodens an Kaliumchlorid 7,5 Proz., an Kaliumnitrat 7 Proz. überschreitet, während noch in gesättigter Kaliumsulfatlösung Sporangien entstehen. Natriumsalze werden, nebenbei bemerkt, nach Günther in höheren Konzentrationen ertragen.

Aus den angeführten Beobachtungen ist schon zu ersehen, daß ein 50 **Ersatz des Kaliums durch Ammon** unmöglich ist. Auch wurde schon angedeutet, daß neuere Versuche darüber erwünscht sind, ob die Tauglichkeit alkalifreier Nährlösungen durch Ammongaben wenigstens etwas aufgebessert weden kann.

Die Frage der **Vertretbarkeit des Kaliums durch Lithium** bei Schimmelpilzen hat durch alle Forscher seit NÄGELI mit einer, auf diesem Gebiete seltenen Einmütigkeit eine verneinende Beantwortung erhalten. Genauer betrachtet liegt die Sache so, daß Lithiumsalze schon in geringer Menge zu Nährlösungen zugesetzt, welche von Kalium frei oder daran arm sind, jedes Wachstum verhindern. Es handelt sich also nicht bloß um eine Unfähigkeit zum Ersatz, sondern um eine spezifische Giftwirkung. So fand GÜNTHER, daß 0,05 Proz. Lithiumnitrat bereits das Maximum für das Wachstum von *Rhizopus nigricans* ist. Im höchsten Grade bemerkenswert ist es aber, daß diese Giftigkeit der Lithiumsalze in sehr weitgehendem Maße von der sonstigen Beschaffenheit der Nährlösung abhängt; sie kann unter Umständen durch Zugabe von Kaliumsalzen vollkommen aufgehoben werden. BENECKE (3) fand, daß 0,2 Proz. salpetersaures Lithium, als Stickstoffquelle einer vollständigen (Weinsäure als Kohlenstoffquelle und 0,05 Proz. KH_2PO_4 als Kaliumquelle führenden) Nährlösung zugefügt, eine kräftige Entwicklung des *Aspergillus niger* erlaubte; es wuchs darauf eine ebenso mächtige und sogar noch reichlicher Konidien bildende Decke heran, als wenn Kaliumnitrat an Stelle des Lithiumsalzes vorhanden gewesen wäre. Noch bessere Ergebnisse lieferte derselbe Versuch, wenn Citronensäure als Kohlenstoffquelle diente. Eine kritische Bearbeitung der Frage nach der Wirkung gleichzeitig gebotener Kalium- und Lithium-Ionen wäre von großem Interesse; es würde sich darum handeln festzustellen, ob diese immer im selben gegenseitigen Verhältnis zueinander stehen müßen, um dieselbe Wirkung auf den Pilz zu erzielen. Auch der Einfluß anderer Nährstoffe, der Kohlenstoff- oder der Stickstoffquelle, wäre zu untersuchen. — Schließlich ist darauf hinzuweisen, daß es noch unbekannt ist, ob der oben hervorgehobene schädliche Einfluß des Zusatzes von Lithiumsalzen zu Nährlösungen die von Kalium frei oder daran arm sind, dann ins Gegenteil umschlägt, wenn dieser noch geringer bemessen wird, als bisher geschehen ist. Denn unter bestimmten Umständen, die auch noch näher zu erforschen sind, können die Salze des Lithiums, einer vollkommenen Nährlösung beigefügt, kräftige Reizwirkungen (s. § 77) ausüben. War auch in dem eben genannten Versuch BENECKE's ein Emporschnellen des Trockengewichtes nicht zu bemerken, so konnte doch RICHARDS (1) ein solches infolge Zusatzes von Lithiumchlorid beobachten. Es bleibt zu untersuchen, inwieweit das Anion Chlor hierfür mit verantwortlich zu machen ist.

Der **Ersatz des Kaliums durch Natrium,** und zwar in äquivalenten Mengen, mindert die Tauglichkeit der Nährlösung so stark herab, daß wohl kaum andere Erfolge mit ihr zu erzielen sind, als mit solchen Nährlösungen, die überhaupt keine fixen Alkalien enthalten. Es zeigt sich nämlich ebenfalls außerordentlich stark verlangsamtes Wachstum und Neigung zum Ausbleiben der Fruchtbildung. Da oben ausgeführt wurde, daß die einzelnen Forscher zu verschiedenen Ansichten darüber gelangt sind, ob ohne Kalium irgendwie erhebliches Wachstum möglich sei, wird natürlich auch die Frage, ob in den jetzt in Rede stehenden (mit Natriumsalzen beschickten) Zuchten etwa Spuren von Kalium mit an dem Erfolge gearbeitet haben, verschieden beantwortet. BENECKE (3) glaubt sie bejahen zu sollen, denn er konnte in Zuchten von *Aspergill[illegible]* *Rhizopus nigricans* und *Botrytis vulgaris*, in denen das Kalium dur[illegible] Natrium ersetzt war, nach selbst recht langer (siebenwöchentlicher) V[illegible] suchsdauer nur ganz geringes Wachstum bemerken. WEHMER (2) ande[illegible] seits neigt dazu, sie zu verneinen; er empfiehlt, die Versuche nicht

früh abzubrechen, da nach zunächst sehr langsamem Wachstum eine allmähliche Anpassung des Pilzes an Natrium erfolgen soll. Immerhin dürfte sicher sein, daß Wehmer mit vollkommen kaliumfreien Lösungen nicht gearbeitet hat; denn er hat einen Zucker mit 0,04 Proz. Asche
5 verwendet, in welcher nach Benecke's Erfahrungen stets Kalium nachgewiesen werden kann. Wir empfehlen die Frage weiterer Bearbeitung und fügen noch eine Anzahl der von Wehmer gemachten Angaben an. Er arbeitete vorwiegend mit *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* und untersuchte den ökonomischen Koeffizienten (s. § 81) einerseits der
10 natriumhaltigen und andererseits der kaliumhaltigen Zuchten und befand ihn in den ersteren stets geringer. Es wurden jedoch auch bei alleiniger (?) Zufuhr von Natrium nicht unbeträchtliche Mengen von Pilztrockensubstanz geerntet, so bei Zuckerzufuhr 12 g, bei Glycerin ca. 7 g, bei Oel (durch *Penicillium*) sogar 21 g auf 100 g verbrauchter
15 Kohlenstoffnahrung. Zum Vergleich sei angeführt, daß in analogen kaliumhaltigen Zuchten auf 100 g Oel 54 g Trockensubstanz erhalten wurde. Ferner stellte auch Wehmer in den natriumhaltigen Zuchten die Neigung zum Ausbleiben der Fruchtbildung nicht nur bei den schon genannten zwei Pilzarten sondern auch bei *Verticillium glaucum*, *Penicillium*
20 *luteum*, *Aspergillus Ostianus*, *Botrytis cinerea* und *Citromyces Pfefferianus* fest.

Die Frage nach der **Vertretbarkeit des Kaliums durch Rubidium**, über welche schon Loew und Nägeli einige zuvor bereits angeführte Beobachtungen angestellt hatten, wurde durch Benecke (1, 2) und
25 Günther (1) wieder aufgegriffen. Wenn zunächst auf Erfahrungen Benecke's, die an Zuchten von *Aspergillus niger* gewonnen wurden, hingewiesen werden darf, so wirken die Salze des Rubidiums in etwas höheren, jenseits 0,5 Proz. liegenden Konzentrationen, in welchen Kaliumsalze noch durchaus günstig sind, schädlich, können sogar schon jedes kräftige
30 Wachstum verhindern, so daß Benecke in einer ersten Mitteilung (1) die Befunde Nägeli's kurzweg als unzutreffend bezeichnen zu sollen glaubte. Tatsächlich liegen, wie er (1) bald darauf fand, die Dinge nicht so einfach; denn wenn man niedrigere Konzentrationen verwendet, ergibt sich, daß die schädigende Wirkung schwindet, ja sogar ins Gegenteil umschlägt,
35 so daß bei genügender Verdünnung das Rubidiumsalz ein etwas höheres Trockengewicht als das Kaliumsalz zu erzielen erlaubt. Der Wendepunkt lag, wie erwähnt, unter bestimmten Züchtungsbedingungen bei ungefähr 0,5 Proz., dürfte aber mit den sonstigen Bedingungen sich verschieben. Gleichwohl war in diesen Versuchen eine wirkliche Ver-
40 tretung des Kaliums durch Rubidium nicht erzielt; denn die Ausbildung der Zucht in den rubidiumhaltigen Nährlösungen war stets anomal: die Konidienbildung trat zurück, und die Decke machte einen ähnlichen Eindruck wie eine mit Zink oder anderen Reizmitteln behandelte (s. § 77). Was den dissimilatorischen Stoffwechsel angeht, so konnte Benecke fest-
45 stellen, daß bei Ernährung mit Rubidium sich mehr Oxalsäure ansammeln kann als bei der mit Kalium; nähere Angaben darüber sind in seiner Abhandlung (2) zu finden.

Was den Ersatz des Kaliums durch Cäsium angeht, so dürfte, nach den bisher vorliegenden spärlichen Erfahrungen zu urteilen, sich dieses
50 letztere Element ganz ähnlich wie das Rubidium verhalten, nur daß es noch etwas schädlicher auf *Aspergillus* wirkt. Die Hemmung der Konidienbildung durch Cäsium ist jederzeit leicht festzustellen.

Besonders schwierig ist die Frage zu beantworten, ob in den er-

wähnten Versuchen mit Rubidium und Cäsium etwa auch wieder geringe Spuren von Kalium mitgewirkt haben. BENECKE hat diese Frage bejaht, weil es sich gezeigt hatte, daß Präparate von Rubidiumsalzen, wenn sie nochmals besonders genau gereinigt wurden, etwas andere Wirkungen als bis dahin äußerten, insbesondere nicht so viele Konidien auf den Decken aufkommen ließen als die käuflichen, minder reinen Salze. Immerhin sind weitere Untersuchungen erforderlich, um diese Frage endgültig zu entscheiden.

Besonders wertvoll wäre es auch, mehr Erfahrungen darüber zu gewinnen, wie die Salze des Kaliums, Rubidiums und Cäsiums, wenn sie vereint zugesetzt werden, sich verhalten, ob etwa, wie beim Lithium die schädigende Wirkung, welche jene letzteren beiden in höheren Konzentrationen zeigen, durch Kaliumgaben aufgehoben werden kann. Es liegen hierüber nur wenige Beobachtungen vor. BENECKE fand, daß 0,441 Proz. Rubidiumnitrat in Nährlösungen, welche außer Weinsäure oder Citronensäure 0,05 Proz. KH_2PO_4, 0,05 Proz. $MgSO_4$ und etwas $FeSO_4$ enthielten, ein befriedigendes Ernte-Trockengewicht zu erzielen erlaubt; allerdings war es etwas geringer als in jenen Fällen, in denen die Nitrate des Lithiums, Kaliums oder Natriums als Stickstoffquelle gedient hatten. Cäsiumnitrat in äquivalenter Menge lieferte unter denselben Bedingungen noch etwas geringere Erntegewichte. Bemerkenswert ist die Beobachtung, daß die Decken um so konidienreicher ausfielen, je geringer das Atomgewicht des zugefügten Alkalimetalles war, d. h. also bei Lithium am üppigsten, bei Cäsium am spärlichsten; auch die der Entwicklung der Konidien parallell laufende Bildung von schwarzroten, in die Lösung hinüber diffundierenden Farbstoffen war bei Lithium am größten, bei Cäsium am geringsten. In Uebereinstimmung mit diesen Erfahrungen konnte GÜNTHER zeigen, daß bei Anwesenheit von ungefähr 0,01 Proz. Kaliumchlorid weder Rubidium- noch Cäsiumchlorid (0,16 bzw. 0,23 Proz.) eine Giftwirkung auf *Aspergillus* ausüben. Dieser Forscher prüfte auch noch andere Pilze. Bei *Rhizopus nigricans* scheinen Rubidium und Cäsium absolut nicht das Kalium ersetzen zu können; *Botrytis vulgaris* hingegen dürfte sich ähnlich wie *Aspergillus niger* verhalten.

Ist somit nach den eben besprochenen Erfahrungen auf spezifische Unterschiede und ganz besonders auf die Konzentration der Alkalisalze bei etwaiger Fortführung dieser Versuche Wert zu legen, so darf nicht außer acht gelassen werden, daß auch die sonstige Beschaffenheit der Nahrung wesentlich mitsprechen kann. BENECKE konnte zwar keine bestimmten Erfahrungen darüber sammeln, ob sich etwa mit veränderter Kohlenstoffquelle die Ansprüche an die Alkalinährsalze verschieben. LOEW (7) andererseits weist darauf hin, daß vielleicht unter Umständen das Kalium sich dem Rubidium bei Zuckerzufuhr als gleichwertig, bei Ernährung mit Acetaten aber als überlegen erweisen könnte.

Von den **Hefen** hat, wie schon im vorgehenden Paragraphen bemerkt worden ist, das Studium der Frage nach dem Nährwert der einzelnen Bestandteile einer Nährsalzlösung seinen Ausgangspunkt genommen. Den ersten Feststellungen durch Ad. MAYER (1) betreffend diese Pilze sind jedoch später nicht allzu viele weitere Erfahrungen angereiht worden, und erst neuerdings verspricht die durch KOSSOWICZ (1) unternommene Prüfung des Einflusses der einzelnen Salze auf die Gestaltung, Farbstoffbildung, Gärkraft und Vermehrung der Saccharomyceten, lehrreiche Aufschlüsse zu bringen. — Nachdem in MAYER's Normallösung die gute Wirkung des Kaliums auf Hefen ermittelt war, suchte NÄGELI (1) in einem

allerdings (schon wegen der Reichlichkeit des Impfmateriales) nicht einwandfreien Versuche die Gleichwertigkeit von Kalium und Rubidium zu erweisen. Mit Reinzuchten, wenn auch nicht von echten Saccharomyceten sondern von *Mycoderma vini*, arbeitete dann WINOGRADSKY (1) und stellte 5 fest, daß von den Alkalimetallen nur Kalium und Rubidium gute Nährstoffe sind, nicht aber auch Cäsium und Natrium. Inwieweit in diesen Versuchen der Einfluß wechselnder Konzentrationen beachtet wurde, ist mir unbekannt. An einer Reinzucht von Winninger Weinhefe konnte BENECKE (2) dann dartun, daß das Natrium, wie zu erwarten, das Kalium 10 schlechterdings nicht ersetzen kann. Eingehende Untersuchungen über den Einfluß von Kaliumsalzen auf die Vermehrung und Gärung von Hefen verdanken wir KOSSOWICZ (1), welcher in seiner Abhandlung auch die ältere Literatur angeführt hat. Ein Zusatz von 1,2 Proz. Kaliumchlorid zu einer Zucker-Mineralsalz-Nährlösung war bei *S. ellipsoideus I* HANSEN das Optimum für die Vermehrung; 12 Proz. drückten sie sehr stark herab, ungefähr 14 Proz. waren das Maximum. Aehnliche Versuche wurden auch mit anderen Kaliumsalzen und anderen Hefenrassen durchgeführt; sie alle führten zu der Feststellung, daß größere Mengen eines Kaliumsalzes die Vermehrung stark beeinträchtigen. 20 Versuche über den Einfluß von Kaliumsalzen auf die Kräftigkeit der Gärung (gemessen an der Größe der Alkoholbildung und der Kohlensäureentwicklung) ließen eine Förderung durch geringe (1 Proz. KCl, 1,82 Proz. KH_2PO_4) und eine Schwächung durch größere Gaben (3 Proz. KCl, 5,46 Proz. KH_2PO_4) erkennen. Kalium gleichzeitig mit organischen 25 Ionen (asparaginsaures oder citronensaures Kalium) geboten wirkte ebenso. Besonders beachtenswert ist die Beobachtung, daß auch eine allmähliche Anpassung an größere Kaligaben erfolgen kann, vorausgesetzt, daß diese nicht zu hoch (16 Proz.) ansteigen. Auch das Eintreten der Hautbildung kann durch allzu große Mengen von Kaliumsalzen um Wochen und 30 Monate verzögert werden.

Bei der Züchtung der **Bakterien** wird den Nährböden, sofern sie nicht schon an und für sich kaliumhaltige Bestandteile führen (Fleischwasser usw.), meistens ein Kaliumsalz gleichzeitig mit den anderen Nährsalzen zugefügt, nicht sowohl darum, weil dessen Unentbehrlichkeit 35 für die Bakterien erwiesen wäre, als vielmehr infolge eines Analogieschlusses von höheren Pflanzen auf die Spaltpilze. Tatsächlich dürfte die Frage, ob in gewissen Fällen für bestimmte Arten von Bakterien das Kalium entbehrlich ist, sehr schwer zu entscheiden sein, weil bei deren geringem Bedarf an Aschenbestandteilen eine hinreichende Reini- 40 gung der zu bietenden Nährstoffe, und somit der Ausschluß von Fehlerquellen, sehr schwer, ja in jenen Fällen, in welchen Eiweißstoffe u. dgl. als Nahrung verwendet werden müssen, sogar unmöglich ist. Wir begnügen uns hier damit, zunächst einige Beobachtungen aufzuzählen, denen zufolge in bestimmten Fällen das Kalium entbehrlich, bzw. durch 45 Natrium ersetzbar sein soll. FRÄNKEL (1) gibt für viele Bakterien, die er mit Milchsäure und Asparagin fütterte, an, daß man ohne Schaden Kaliumsalze durch Natriumsalze ersetzen dürfe. Ferner soll *Azotobacter chroococcum* nach GERLACH und VOGEL (1) ohne Anwesenheit des Kaliums und des Natriums wachsen und Stickstoff binden können. 50 Wenn eines der beiden Elemente zugegen ist, besonders aber wenn beide vereint gegeben werden, verläuft allerdings die Stickstoffbindung besser; so z. B. waren ohne Alkali nach 45 Tagen ca. 20 mg und nach 65 Tagen nur wenig mehr gebunden, bei Zugabe von Natrium- und

Kaliumsalzen hingegen nach 45 Tagen 29 mg und nach 65 Tagen 45 mg. Man wird die Möglichkeit, daß das Kalium entbehrlich sei, unbedingt zugeben aber doch vorläufig Bedenken hegen dürfen, wenn man hört, daß ein Liter des durch diese zwei Forscher zur Herstellung der Nährlösung verwendeten Wassers nach dem Verdampfen keinerlei 5 Rückstand und 20 g des Traubenzuckers, der in diesen Versuchen als Kohlenstoffquelle für den Azotobacter diente, keine Asche hinterlassen haben soll! — Für viele Bakterien, insbesondere Leuchtbakterien und Meeresbakterien im allgemeinen, ist noch nicht in allen Fällen entschieden, ob das Natrium den Wert eines Nährelementes hat und als solches 10 das Kalium vertreten kann, oder ob die Natriumsalze zur Erzielung des für das Wachstum günstigen osmotischen Druckes der Nährlösung dienen. Zufolge MacKenney (1) soll Wachstum und Leuchten der von ihm untersuchten Arten vor sich gehen können, wenn als alleinige anorganische Basis Natrium oder Magnesium geboten wird, während Kalium, 15 Lithium, Rubidium oder Cäsium allein nicht genügt. Dies würde also für die Entbehrlichkeit des Kaliums, falls Natrium oder Magnesium, und des Natriums, falls Magnesium anwesend ist, sprechen; jedoch entzieht es sich meiner Kenntnis, ob die Erfahrungen des genannten Forschers diesen Schluß auch wirklich zulassen (Peptongehalt des Nährbodens?). — 20 Was die Abhängigkeit bestimmter Partialfunktionen angeht, so fand Thumm (1), daß Kalium neben Magnesium als Basis für die Farbstoffbildung gewisser Bakterien unerläßlich ist. Da nach den neuen Untersuchungen Kossowicz' (3) viele Bakterien in Zucker-Mineralsalz-Nährlösungen Farbstoffe hervorbringen, d. h. unter Bedingungen, unter denen 25 eine weitgehende Reinigung der Nährstoffe tunlich ist, wäre eine allgemeine Untersuchung darüber wohl durchführbar. Ueber die Folgen eines Ersatzes des Kaliums durch Rubidium bei Bakterien ist kaum etwas bekannt; mir sind nur die Angaben Loew's (7) darüber erinnerlich, daß *Cladothrix odorifera* in einer Glucose-Nährsalz-Lösung bei Ersatz 30 des Kaliums durch Rubidium nicht gedeiht; ob es sich aber hier um eine hemmende Wirkung durch das letztgenannte Element oder um ein durch den Kaliummangel verursachtes Ausbleiben des Wachstums handelt, ist wohl erst noch zu untersuchen. Ferner gibt der letztgenannte Forscher noch an, daß in einer aus Glycerin, Asparagin, Kalium- 35 phosphat und Magnesiumsulfat zusammengesetzten, vollständigen Nährlösung sich auf Zusatz von weinsaurem Natron das *Bact. coli*, der *Bac. pyocyaneus* und der *Bac. anthracis* nur in geringem Maße entwickeln, daß das *Bact. coli* bei Zugabe des Tartrates von Kalium oder von Rubidium gleich gut gedeiht, daß der *Bac. pyocyaneus* das Kalium bevorzugt, 40 und daß der *Bac. anthracis* bei Anwesenheit von Kalium eben so schlecht als bei Darbietung von Natriumtartrat wächst.

In betreff der Rolle, welche den Kaliumsalzen bei der Nitrifikation zukommt, sei auf das 5. Kapitel des III. Bandes verwiesen.

Lithiumsalze wirken oft auf Bakterien ganz ebenso wie auf andere 45 Pilze schädlich ein; man vergleiche darüber die Mitteilung von Fedorolf (1).

§ 83. Alkalische Erden.

Grüne Pflanzen bedürfen, soweit bis jetzt bekannt, der gleichzeitigen Zufuhr von Magnesium- und Kalksalzen. Eine Ausnahme wurde von 50

MOLISCH (3) entdeckt: viele niedere Algen können ohne Calcium bestehen; Magnesium ist aber auch ihnen unentbehrlich.

In betreff der Schimmelpilze verdanken wir NÄGELI (1) und LOEW die ersten Untersuchungen. Diese Forscher glaubten, daß von den Basen 5 Magnesium, Calcium, Strontium und Baryum nur eine erforderlich sei; denn *Penicillium* gedieh in einer schwach sauren, Essigsäure als Kohlenstoffquelle und Ammonsalze als Stickstoffquelle enthaltenden Nährlösung bei Anwesenheit einer dieser Basen, während so gut wie gar keine Entwicklung eintrat, wenn keine von ihnen vorhanden war.

10 Daß Calcium überflüssig ist, wenn Magnesium geboten wird, fand dann später auch RAULIN (1) in seinen bekannten vielfältigen Zuchten des *Aspergillus niger*. Da immerhin nicht sicher war, ob nicht in dem komplizierten Stoffgemisch, welches dieser Forscher verwendet hatte, Verunreinigungen eine Rolle gespielt hatten, weil zu jener Zeit die 15 Reinheit der chemischen Präparate überhaupt viel zu wünschen übrig ließ, war eine Weiterführung dieser Untersuchungen geboten. Sie ist durch MOLISCH (2) und BENECKE (1—3), unternommen worden, denen sich später noch GÜNTHER (1) anschloß. Das allgemeine Ergebnis der Arbeiten dieser drei Forscher war die Feststellung, daß das Magnesium 20 unbedingt notwendig ist und durch die anderen alkalischen Erden einschließlich des Calciums oder sonstige verwandte Elemente nicht vertreten werden kann. Von diesen letzteren erwies sich keines als notwendig; die (darauf hin geprüften) Schimmelpilze verhalten sich also ebenso wie die von MOLISCH studierten niedern Algen und stehen zu- 25 sammen mit diesen im Gegensatz zu den anspruchsvolleren höheren Pflanzen; sie sind aber, weil sie das Magnesium nicht entbehren können, doch nicht so anspruchslos wie NÄGELI und LOEW gemeint hatten. Versuchspilze jener drei Forscher waren wieder hauptsächlich *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*; von GÜNTHER wurden auch noch 30 Mucoraceen und *Botrytis vulgaris* herangezogen. Als Kohlenstoffquelle der Nährlösungen dienten meist Zucker, Glycerin oder essigsaures Ammon, welch letzteres den Vorteil hat, leicht ganz rein hergestellt werden zu können. Wurden nun mit diesen Kohlenstoffquellen bereitete Nährlösungen ohne Zusatz von Magnesiumsalzen geboten, so war das 35 Wachstum entweder sehr stark beschränkt oder auch ganz unmöglich gemacht. Eine geringe Entwicklung beobachtete MOLISCH bei *Aspergillus niger*, wenn dieser mit Zucker, und GÜNTHER bei *Rhizopus nigricans*, wenn dieser mit Zucker oder Glycerin gefüttert wurde. Auf essigsaurem Ammon bleibt nach MOLISCH, wenn von den Nährsalzen solche 40 des Magnesiums fehlen, jedes Wachstum aus.

Nach BENECKE's Erfahrungen ist auch die Reaktion der Nährlösung von maßgebender Bedeutung; denn in Nährlösungen, die zwar keinen besonderen Zusatz von Magnesiumsalzen enthielten, die aber, weil sie peptonhaltig waren, zweifellos geringe Spuren von diesem Element führten, 45 blieb jegliches Wachstum, ja sogar die Keimung der Konidien von *Aspergillus* aus, wenn die Nährlösung durch (4 Proz.) Weinsäure oder Citronensäure sauer gemacht worden war. Unterließ man den Zusatz der Säuren, so konnten sich geringe Mengen untergetauchter Pilzmassen entwickeln. Fügte man solchen Lösungen, seien sie nun mit Säure versetzt worden 50 oder nicht, geringe Mengen von Bittersalz oder von kohlensaurer Magnesia, kurz irgend eines Magnesiumsalzes, zu, so traten alsbald schwarze, konidienprangende Decken des Pilzes auf.

Es ist im höchsten Grade wahrscheinlich, daß da, wo ohne

Magnesiumzusatz ein ohnehin kümmerliches Wachstum stattfand, dies nur auf Kosten von Verunreinigungen vor sich gehen konnte. Dafür spricht, ganz ähnlich wie in den im § 82 betrachteten kaliumfreien Zuchten, die Erfahrung, daß recht geringe Zusätze von Magnesiumsalzen den Nährwert einer davon freien Lösungen aufbessern oder Wachstum 5 auf ihr eintreten lassen. Sehr auffallend ist es, zu sehen, wie *Aspergillus*-Konidien auf magnesiumfreien Lösungen wochenlang untätig bleiben, um sich auf Zusatz einer Spur eines Magnesiumsalzes in wenigen Tagen zu einer kräftigen Decke zu entwickeln.

In einem Versuche, der in schwach saurer, gezuckerter Mineralsalz- 10 Nährlösung mit Ammon als Stickstoffquelle angelegt war, fand BENECKE (2), daß *Aspergillus* schon auf Zusatz von nicht mehr als 0,01 mg Bittersalz zu 100 ccm ein kräftigeres Wachstum zeigte; die Zucht ergab nach 36 Tagen ein Trockengewicht von 0,015 g, die magnesiumfreie hingegen ein solches von 0,003 g. Nach GÜNTHER war *Rhizopus nigricans* 15 noch für eine Gabe von 0,005 mg Magnesiumsulfat dankbar. Das Optimum des Magnesiumzusatzes verschiebt sich natürlich mit den sonstigen Bedingungen; immerhin dürften meistens nur einige Milligramme von diesem Elemente erforderlich sein. In einem Versuche von MOLISCH war das Optimum bei Zugabe von 0,03 Proz. $MgSO_4$ erreicht. In dem oben an- 20 gezogenen Versuche BENECKE's zeigte sich, daß mit allmählich steigendem Magnesiumgehalt des Nährbodens auch das Trockengewicht langsam zunahm; war es, wie oben erwähnt, bei Zusatz von 0,00001 Proz. $MgSO_4$ gleich 0,015 g, so betrug es bei Zusatz von 0,00012 Proz. schon 0,055 g, bei Zusatz von 0,04 Proz. sogar 0,085 g. Das Optimum wurde in dieser 25 Versuchsreihe nicht ermittelt.

Das Maximum wurde in einigen Fällen durch GÜNTHER festgestellt, allerdings bloß für *Rhizopus nigricans*. Oberhalb 15 Proz. Magnesiumsulfat trat kein Wachstum mehr ein. Magnesiumnitrat ist giftiger; denn dieses Salz verhinderte schon jenseits 5 Proz. die Entwicklung. 30

Alle diese Untersuchungen über das Mineralstoffbedürfnis der Pilze sind noch durchaus als erweiterungsbedürftig zu bezeichnen. Es wurde fast immer nur das Wachstum beobachtet und das Trockengewicht festgestellt. Nähere Untersuchung des Stoffwechsels bei wechselnder Zufuhr bestimmter Nährsalze fehlen meist noch ganz. Einige Anläufe dazu 35 finden sich in BENECKE's (3) Arbeit verzeichnet. Da ist nachzulesen, daß bei Magnesiummangel der Pilz nicht nur schwächer wächst, sondern auch mit der Nahrung (Kohlenstoffquelle) weniger haushälterisch umgeht. Bei Zusatz von 0,00004 Proz. Magnesiumsulfat betrug der ökonomische Koeffizient in Rohrzuckerlösung 17, um allmählich mit sinkendem Mag- 40 nesiumgehalt bis auf 10 hinabzusinken. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung wären erwünscht.

In formativer Hinsicht ist noch die Bemerkung nachzutragen, daß bei sinkendem Magnesiumgehalt häufig die Konidienbildung gehemmt wird, und zwar in stärkerem Maße als die Entwicklung des vegetativen 45 Teiles des Thallus. COUPIN und FRIEDEL (1) wollen gefunden haben, daß *Aspergillus versicolor* in einer magnesiumfreien RAULIN'schen Nährlösung graurosafarbige Konidien statt der normalen grünfarbigen bildete.

Nach den bisher angeführten Erfahrungen fragt es sich nun, ob nicht vielleicht das Magnesium durch die anderen alkalischen Erden 50 insbesondere das Calcium, wenigstens zum Teil vertreten werden könne, was ja in Hinblick auf LOEW's (1) Erfahrungen nicht undenkbar wäre. Es ist jedoch Sicheres darüber nicht bekannt.

Für höhere Pilze oder allgemeiner gesagt, für andere als die bisher untersuchten, ist es natürlich möglich, daß sie neben Magnesium auch noch Calcium bedürfen. Daß einige von ihnen bei Abwesenheit von Calcium zweifellos an Ausfallserscheinungen leiden müssen, die allerdings nicht tödlich sind, lehrt die bekannte Tatsache, daß Mucoreen normalerweise in der Wand ihrer Sporangien Kristalle von Calciumoxalat führen, deren Bildung bei Kalkmangel unterbleiben muß. In solchen Fällen wird sich immer die Frage erheben, inwieweit beim Entzug gewisser Stoffe das Wachstum zwar in den Reinzuchten unserer Laboratorien, nicht aber auch im Kampf ums Dasein in der freien Natur möglich ist. Ferner gibt BREFELD (1) an, daß „die Bildung und Abscheidung des oxalsauren Calciums mit den Lebensvorgängen im Inneren des Sklerotiums von Ascomyceten in direktem Zusammenhange steht. Bei Lösung des sterilen Gewebes der Sklerotien findet eine massenhafte Ausscheidung von solchen Kristallen statt". Es wäre also die Züchtung sklerotienführender Pilzdecken auf calciumfreien Lösungen zu versuchen.

Die dem Magnesium verwandten Elemente Cadmium, Zink, Beryllium, Baryum und Strontium sind, ebenso wie das Calcium, unfähig, jenes erstgenannte Metall zu ersetzen, ja es sind einige von ihnen sogar recht schädlich, vermögen aber, wie schon im § 77 dargelegt worden ist, in starker Verdünnung als Reizmittel zu wirken. Daß das Cadmium sehr giftig ist, hat MOLISCH (2) an Zuchten von *Aspergillus* und *Penicillium* festgestellt: schon 0,002 Proz. genügten, um die Entwicklung nicht aufkommen zu lassen. Für *Rhizopus*, der offenbar empfindlicher als die beiden eben genannten Pilze ist, fand GÜNTHER folgende Werte: Cadmiumchlorid verhindert bei 0,0001-proz. Zusatz das Wachstum, Zinksulfat schon jenseits 0,01 Proz., Baryumnitrat bei 1 Proz., Strontiumnitrat bei 1,5 Proz., Calciumnitrat bei 4 Proz. Weniger schädlich als Cadmium und Zink ist Berylliumchlorid, von dem bis zu 0,2 Proz. noch vertragen werden, wobei allerdings Absonderlichkeiten in der Gestaltung sich einstellen.

AD. MAYER (1) hat das Verdienst, schon früh auf die Bedeutung des Magnesiums für die **Hefen,** und damit für die Pilze überhaupt, hingewiesen zu haben. Er kam zu dem Schlusse, daß dieses Element für Bierhefen mindestens viel bedeutungsvoller sei als der Kalk, und stellte als möglich hin, daß die Assimilation des Phosphors in einer noch unbekannten Weise an die Anwesenheit von Magnesium gebunden sei. Später wies dann WINOGRADSKY (1) in einwandfreier Weise nach, daß Magnesium für das Wachstum der Kahmhefe (*Mycoderma*) unbedingt erforderlich sei und durch Calcium oder Strontium nicht vertreten werden könne. Es dürfte somit auch für die Hefen gelten, daß sie, wie viele Schimmelpilze, Magnesium nötig haben, andere alkalische Erden aber nicht. Damit stimmen auch gelegentlich gegebene Vorschriften für Hefennährlösungen überein, so z. B. die durch LAURENT (2) empfohlene, die wohl jenes Element, jedoch kein Calcium enthält. Daß Magnesiumsalze von tiefgreifendem Einfluß auf die Farbstoffbildung durch gewisse Saccharomyceten sind, erkannte zuerst KOSSOWICZ (1). In einer Nährlösung, welche 5 Proz. Rohrzucker, 0,4 Proz. Chlorkalium, 0,4 Proz. Magnesiumsulfat, 0,04 Proz. $Ca_2H_2(PO_4)_2$ und 0,4 Proz. $(NH_4)_2HPO_4$ enthält, bilden *Sacch. ellipsoideus I* und *Sacch. cerevisiae I* einen fleischroten und *Spiritushefe Rasse II* der Berliner Station einen rötlichgelben Farbstoff, während *S. Pastorianus I, II* und *III*, *S. ellipsoideus II*, *S. exiguus*,

S. anomalus, S. membranaefaciens, Carlsberg Unterhefe Nr. 2 und Frohberghefe keinen Farbstoff bilden. Die Entstehung des Farbstoffes bei jenen ist von der Anwesenheit und der Menge des Magnesiumsulfates abhängig. Bei 0,04 Proz. tritt sie ein, wächst dann mit steigendem Gehalte an und wird bei vollständiger Sättigung der Nährlösung mit Magnesium- 5 sulfat am schönsten. Wechselnde Mengen bedingen auch Unterschiede im Farbenton. Zufuhr von Calcium ist dazu nicht nötig, ein Zusatz von bestimmten Stoffen, wie Weinsäure und Asparagin, beeinträchtigt sie, ohne daß diese die Entwicklung der Hefe zu schädigen brauchten. Die Farbstoffbildung zeigt sich bei 22—25° C schon nach 2—3 Wochen. 10 Ist somit, soweit die bisherigen Erfahrungen reichen, das Calcium für Wachstum und Gärtätigkeit der Hefen nicht unbedingt erforderlich, so kann es doch fördersam wirken. Näheres darüber ist im 3. Kapitel des IV. Bandes zu finden.

Indem wir die Besprechung der Abhängigkeit der Farbstoffbildung 15 bei **Bakterien** von der Zufuhr von Magnesiumsalzen auf den Schluß dieses Paragraphen uns aufsparen, seien zunächst jene wenigen Beobachtungen mitgeteilt, welche die Bedeutung der alkalischen Erden für das Spaltpilzwachstum betreffen. Aus mehr gelegentlichen und beiläufigen Erfahrungen geht hervor, daß für viele Bakterien offenbar ebenso wie 20 für Eumyceten das Magnesium ein Nährstoff ist. So konnte MOLISCH (2) bemerken, daß magnesiumfreie Nährlösungen steril bleiben können, selbst wenn sie mit einem Gemische von Fäulnisbakterien beimpft werden. Ohne Magnesiumzusatz sollen andererseits nach MAC KENNEY (1) Leuchtbakterien wachsen und leuchten können, da diese beiden Funktionen 25 auch bei alleiniger Darbietung von Natriumsalzen erfüllt werden können. Inwieweit hierbei in den Nährböden das Magnesium wirklich vollkommen ausgeschlossen gewesen ist, bleibe dahingestellt. Soviel ich weiß, arbeitete dieser Forscher mit peptonhaltigen Lösungen. Ob „Pepton“ immer magnesiumfrei ist, erscheint mindestens fraglich; nach einer kurzen Be- 30 merkung bei THUMM (1) sollen gewisse Sorten des Handels es tatsächlich sein. Andererseits soll auch Magnesium (als Sulfat) als alleinige anorganische Basis für Wachstum und Leuchten dieser Spaltpilze genügen können; Magnesium und Natrium gemeinsam geboten wirken aber noch besser. — Daß das Calcium für viele, ja vielleicht sogar die meisten 35 Bakterien unnötig ist, geht aus manchen Erfahrungen hervor. Man beachte z. B. die Angaben von HUEPPE (1) oder von LOEW (2). Andererseits ist die Unentbehrlichkeit dieses Metalles für bestimmte Arten behauptet worden. Hier sind hauptsächlich stickstoffbindende Bakterien zu nennen, und zwar sowohl die Leguminosenbakterien als auch *Azoto-* 40 *bacter*. Nähere Untersuchung dürfte in beiden Fällen erwünscht sein. Kalksalze sind als besonders bedeutungsvoll für bestimmte formative Prozesse erkannt worden. Ein Beispiel dafür ist der *Leuconostoc mesenterioides*, dessen Wachstum und Hüllenbildung zufolge LIESENBERG und ZOPF (1) durch einen Zusatz von 3—5 Proz. Calciumchlorid sehr be- 45 günstigt wird.

Die Beziehung der **Farbstoffbildung der Bakterien** zu den **alkalischen Erden** ist zunächst durch GESSARD (1) am *Bac. pyocyaneus* studiert worden, der in einer bernsteinsaures Ammon als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle führenden und außerdem phosphorsaures Kali, 50 schwefelsaure Magnesia und Chlorcalcium enthaltenden Nährlösung gezüchtet wurde. Dem genannten Forscher zufolge soll dieser Bazillus zwei Farbstoffe bilden, Pyocyanin und einen fluorescierenden (s. Bd. I,

S. 289 u. Bd. III, S. 92). Drückt man nun den Phosphatgehalt der Salzlösung auf ein Minimum hinab, so soll das Wachstum stark gehemmt und von den zwei Farbstoffen nur das Pyocyanin gebildet werden. Mangel an Phosphorsäure soll also den Mangel an Fluorescenz bedingen.
5 Da auch in Peptonlösungen ohne Zusatz von Phosphaten nur das Pyocyanin auftrat, nach Phosphatzusatz aber Fluorescenz, so folgerte Gessard weiter: bei Ueberwiegen von stickstoffhaltigen Stoffen wird nur Pyocyanin hervorgebracht, bei Ueberwiegen von Phosphaten tritt nur Fluorescenz ein. Es wurden auch Nährlösungen mit wechselnden Mengen
10 von Phosphaten angewendet, wobei sich zeigte, daß bis zu einem Gehalte von 0,00625 Proz. Phosphat Pyocyanin, von 0,13 Proz. an und darüber hingegen nur der fluorescierende Farbstoff entsteht. Schließlich weist dieser Forscher darauf hin, daß immer, wenn die Fluorescenz ausbleibt, daraus auf einen Mangel an Phosphaten geschlossen werden darf.
15 Er empfiehlt den *Bac. pyocyaneus* geradezu als Reagens auf Phosphat. Das Gleiche soll nach Gessard auch für andere fluorescierende Arten gelten. Ein Weglassen des Kalksalzes aus der oben angegebenen Nährlösung hatte keine Aenderung der Farbstoffbildung zur Folge. Von allen diesen Befunden konnte Thumm (1) im wesentlichen nur die zwei
20 bestätigen, daß Phosphate für die Bildung des fluorescierenden Farbstoffes von Wichtigkeit, Calcium hingegen im wesentlichen bedeutungslos sind. Sonst weichen aber seine Ansichten stark von denen seines Vorgängers ab. So vor allem soll der in Rede stehende Spaltpilz überhaupt niemals Pyocyanin sondern nur fluorescierenden Farbstoff bilden, ferner
25 soll für die Bildung dieses Farbstoffes nicht, wie Gessard meint, nur Phosphat, sondern vielmehr Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat erforderlich sein. Von ersterem bewirken geringe Mengen eine blaue Fluorescenz der Nährlösung, größere Mengen eine blaugrüne, noch größere eine moosgrüne. Während Gessard, wie wir sahen, diese Verschiedenheiten
30 auf einen Wechsel in den Mengen von Pyocyanin einerseits und von fluorescierendem Farbstoff andererseits zurückführt, konnte Thumm erweisen, daß durch Zusatz von Ammoniak die blaue Fluorescenz zu einer moosgrünen wird, und weiter, daß die blaue Fluorescenz bei geringem Phosphatzusatz nur darauf beruht, daß dieser das Wachstum und damit auch die
35 Abspaltung von Ammoniak aus Pepton, die in phosphorreichen Lösungen stark ist, herabmindert. Ließ Thumm das Magnesiumsulfat weg, so unterblieb bei allen untersuchten Stämmen von *Bac. pyocyaneus* und *Bac. viridans* jede Farbstoffbildung. Bei den übrigen untersuchten fluorescierenden Bakterienarten (*B. fluorescens tenuis*, *B. fl. putidus*, *B. fl. albus*,
40 *B. erythrosporus*, *Bact. syncyaneum*) wird sie bei Abwesenheit von Magnesium stark verringert, um schließlich vollständig zu schwinden, wenn auch das Chlorcalcium aus der Lösung fortgelassen wird. Die Bedeutung des Magnesiums läßt sich auch dadurch dartun, daß man Peptonlösungen, welche kein Fluorescieren erlauben, durch Zusatz von Salzen jenes
45 Elementes dazu bringen kann. Es ist somit ganz sicher, daß Mangel an Fluorescenz nicht unbedingt auf Mangel an Phosphaten schließen läßt, sondern es kann auch das Fehlen des genannten Erdalkalis die Ursache sein. Der *Bac. fluorescens putidus* ist insofern eigenartig, als er ganz bestimmter Mengen (0,04 Proz.) von Magnesiumsulfat für die
50 Hervorbringung von Fluorescenz bedarf. Etwas anders verhält sich nach Thumm das *Bact. syncyaneum*, das zwei Farbstoffe, nämlich außer dem fluorescierenden einen stahlblauen, bildet. Auch hier sind zur Entstehung des ersteren Gegenwart sowohl von Magnesiumsulfat als auch

Kaliumphosphat unerläßlich. Die geringsten Mengen Phosphat genügen, um den fluorescierenden Farbstoff erscheinen zu machen; der stahlblaue Farbstoff hingegen tritt nur bei Anwesenheit größerer Gaben von Phosphat in reichlicher Menge auf. Der geringste Zusatz von Magnesiumsulfat reicht ferner ebenfalls zur Bildung des fluorescierenden Farbstoffes 5 aus; aber der stahlblaue wird, wenn nur wenig von diesem Salze geboten wird, reichlicher, als wenn viel zugegen ist, hervorgebracht. Anwesenheit von Chlorcalcium ist für die Bildung des ersteren belanglos; der letztere hingegen wird reichlicher bei Abwesenheit dieses Salzes hervorgebracht. Noch bemerkenswerter als die eben angeführten Befunde sind 10 aber jene Beobachtungen THUMM's, denen er mit nachfolgenden Worten Ausdruck verleiht: „Solange es sich nur um die Entwicklung der einzelnen Arten handelt, ist die Ansicht NÄGELI's vollkommen zutreffend, wenn er annimmt, Calcium kann durch Magnesium vertreten werden und umgekehrt. Bei der Farbstoffbildung trifft dies nicht mehr zu, und 15 Magnesium kann nie durch Calcium ersetzt werden.“ Tatsächlich konnte THUMM in den Fällen, in denen er das Magnesium wegließ, ein ohne Farbstoffbildung verlaufendes Wachstum seiner Bakterien beobachten. Im einzelnen zeigen sich aber Unterschiede zwischen den verschiedenen Arten, und es erscheint mir möglich, daß ALFR. FISCHER (2) mit seiner 20 Kritik Recht hat, daß weitere Untersuchungen erwünscht sind, um diesen interessanten Befund sicher zu stellen; es ist eben nicht ausgeschlossen, daß das farblose Wachstum auf Kosten von Spuren von Magnesium vor sich gegangen ist. Immerhin werden THUMM's Beobachtungen, und das spricht für sie, durch verschiedene der im folgenden zu nennenden 25 Forscher auch in betreff anderer Arten bestätigt. JORDAN (1) versuchte das Minimum des Magnesiumsulfatzusatzes für die Farbstoffbildung einiger fluorescierender Bakterien zu ermitteln und stellte, ebenso wie THUMM, fest, daß schon sehr geringe Spuren genügen. Meist reichen Mengen zwischen 0,01 und 0,001 Proz. aus; etwas mehr bedarf der an- 30 spruchsvollere *B. fluor. putidus*, während *Bac. viridans* am wenigsten verlangt, nämlich noch bei Zusatz von 0,00001 Proz. Farbstoff bildete. Als Phosphatzugabe genügte 0,001 Proz. immer, 0,0001 Proz. hingegen nicht mehr in allen Fällen. Natürlich gelten diese Zahlen nur für bestimmte Ernährungsverhältnisse; bei Zusatz von organisch-sauren Salzen 35 und durch die Beschaffenheit der Stickstoffquelle ergeben sich Aenderungen. Auch NÖSSKE (1) fand in dem *Bac. pyocyaneus* und ebenso im *Bac. prodigiosus* ein sehr empfindliches Reagens auf Magnesiumverbindungen. Mit steigendem Gehalte an solchen nahm schließlich die Reichlichkeit der Farbstoffbildung wieder ab, während das Wachstum noch 40 weiterhin kräftig blieb. Ueber *Bac. prodigiosus* handelt auch KUNTZE (1). Wie THUMM für die fluorescierenden Bakterien, so fand er auch für den Bazillus des blutenden Brotes, daß zwar ohne Magnesium Wachstum aber keine Farbstoffbildung statthatte, daß ferner für die letztgenannte Lebenserscheinung 0,001 Proz. Magnesiumsulfat ausreicht, und daß für 45 sie auch Sulfatzugabe nötig ist. Immerhin dürfte bei Anwesenheit des Magnesiums das Wachstum kräftiger sein als bei dessen Abwesenheit. SAMKOW (1) schloß sich den vorhergehenden Forschern insofern an, als auch er fand, daß *Bac. prodigiosus* ohne dieses Metall sich zu entwickeln vermag, aber keinen Farbstoff bildet. Dennoch ist 50 Magnesium in diesem letzteren selbst nicht vorhanden; es liegt also hier ein gewissermaßen analoger Fall zu der Tatsache vor, daß die Chlorophyllbildung der grünen Pflanzen an Eisenzufuhr gebunden ist, obwohl

das Blattgrün selbst kein Eisen enthält. Phosphor und manchmal auch Chlor sollen nach SAMKOW gleichfalls für die Farbstoffbildung dieses Spaltpilzes nötig sein, Wachstum soll aber auch ohne diese Elemente eintreten (?). LUCKHARDT (1) machte dann auf die Beobachtung aufmerksam, daß man 5 „echte weiße Rassen" von *Bac. prodigiosus* auch durch gute Ernährung, Zufuhr von Magnesium usw. nicht dazu bringen kann, Prodigiosin zu erzeugen, was bei anderen Stämmen, die durch Alter, schlechte Ernährung usw. gebleicht sind, jederzeit leicht möglich ist; wohl aber tritt bei weißen Rassen ohne sichtbare äußere Ursache gelegentlich das Rot wieder auf. 10 Aehnlich verhält sich nach LUCKHARDT (1) der *Staphylococcus pyogenes aureus*. Beziehungen zwischen dem Gehalt des Nährbodens an Magnesium und der Farbstoffbildung fand schließlich auch KOSSOWICZ (3) bei *Bact. synxanthum*. Auf Gelatine und auf Agar wuchs diese Art weiß; in mineralischer, außerdem raffinose- oder saccharosehaltiger Nährlösung 15 brachte sie einen rötlichbraunen Farbstoff hervor, „dessen Auftreten und Intensität durch den Gehalt an Bittersalz beeinflußt wird".

§ 84. Elemente der Eisengruppe.

Im Gegensatze zu anderen Forschern nahm RAULIN (1) an, daß das Eisen, ebenso wie das Zink, von welch letzterem schon im § 77 die 20 Rede gewesen ist, als ein für Pilze (*Aspergillus niger*) unentbehrlicher Nährstoff zu gelten habe. Er schloß dies daraus, daß gemeinsamer Zusatz von Zink- und von Eisenvitriol zu einer Nährlösung eine Vergrößerung der Ernte zur Folge hatte. Wurde das Eisen durch Mangan ersetzt, so trat ebenfalls eine (allerdings geringere) Steigerung des Er-25 trages ein; dieser Forscher läßt es unentschieden, ob dies eine Wirkung des Mangans selbst oder einer ihm anhaftenden Verunreinigung mit Eisen sei. Mit dieser Behauptung von der Notwendigkeit des Eisens trat RAULIN (1) in Gegensatz zu vielen anderen Forschern; man lese darüber z. B. die Abhandlung CUGINI's (1), die eine ausführliche Dar-30 legung der früheren Ermittlungen über das Mineralstoffbedürfnis der Pilze gibt. Auch AD. MAYER (1) und A. SCHULZ (1) hatten die Entbehrlichkeit des Eisens für Hefen (im Gegensatz zu den Chlorophyllpflanzen) betont. Während heutigen Tages alle Forscher darin einig sind, daß von den oben genannten Elementen das Zink und das Mangan keine 35 Nährstoffe, sondern, falls sie überhaupt in richtiger Verdünnung angewendet werden, lediglich begünstigende Reizstoffe vorstellen, sind die Meinungen betreffend das Eisen geteilt. Allen voran erklärt MOLISCH (1), in Uebereinstimmung mit RAULIN (1), dieses Metall für einen unentbehrlichen Nährstoff und stützt sich auf Versuche, in welchen er 40 aufs Sorgfältigste jede Fehlerquelle nach Möglichkeit auszuschließen sich bemühte; dabei fand er z. B., daß *Aspergillus niger* in einer Nährlösung, welche Glycerin als Kohlenstoffquelle und Salmiak als Stickstoffquelle führte, ein Ernte-Trockengewicht von nur 90 mg lieferte, falls kein Eisen zugesetzt worden war; jenes erreichte hingegen fast das Doppelte, wenn 45 man 0,00025 Proz. Ferrosulfat geboten hatte, und sogar 480 mg, wenn 0,01 Proz. dieses Salzes vorhanden waren. Wurde als Kohlenstoffquelle anstatt Glycerin oder Zucker die leichter zu reinigende Essigsäure (in Form ihres Ammoniumsalzes) gegeben, so war ebenfalls eine Steigerung des Ertrages durch Zusatz von Eisensalzen zu beobachten, und in den 50 eisenfreien Zuchten trat unter diesen Umständen sogar die Bildung der

Konidien ganz zurück. Auch durch Zusatz von Eisenoxyd konnte die beschriebene Förderung des Wachstums erzielt werden, so daß für sie zweifellos das Kation, nicht etwa das Anion des Eisensalzes, verantwortlich zu machen ist. Wie *Aspergillus* wurde auch *Mucor racemosus* durch Eisengaben gefördert, ebenso *Penicillium*; der letztgenannte Pilz zeigte dabei unter 5 Umständen eigenartige Gestaltsveränderungen. Mangan, Nickel oder Kobalt konnten in MOLISCH's (2) Zuchten das Eisen nicht vertreten, sondern bewirkten sogar gelegentlich starke Erniedrigung des Ernte-Trockengewichts gegenüber demjenigen eisenfreier Zuchten. Weiter fand MOLISCH (2), daß das Eisen nicht durch Zink vertreten werden kann; dieses letztere steigerte 10 zwar den Ernteertrag, beeinträchtigte aber die Konidienbildung. Aus allen diesen Befunden folgerte MOLISCH, wie schon gesagt, die Unentbehrlichkeit des Eisens; in den Fällen, in welchen trotz mangelnden Eisenzusatzes Wachstum eintrat, rechnet er mit unvermeidlichen Verunreinigungen der Nährstoffe. 15

Im Gegensatz zu MOLISCH will WEHMER (2) im Eisen nicht einen Nährstoff sondern einen Reizstoff sehen, der überdies nur unter besonderen Bedingungen seine fördernde Wirkung entfalten solle. Allerdings ist WEHMER's Versuchen entgegenzuhalten, daß sie nicht allen Fehlerquellen in wünschenswerter Weise Rechnung tragen; denn er hat für eine 20 besondere Reinigung der als Nährstoffe dienenden Präparate nicht gesorgt. Trotzdem enthalten zweifellos die Angaben dieses Forschers einiges Bemerkenswerte, was hier hervorgehoben sei. Eine Förderung durch Eisensalze konnte er bei *Aspergillus niger* nur dann beobachten, wenn er Ammoniumnitrat, nicht wenn er Kaliumnitrat als Stickstoffquelle 25 verwendete. Im ersten Falle verlief die Entwicklung viel schneller, wenn Eisen zugesetzt war, und die erzielbare Ernte erreichte auch eine größere Höhe, nämlich nach 18 Tagen 300 bis 400 mg Trockengewicht. Ohne Eisen belief sich letzteres selbst nach 100 Tagen im allergünstigsten Falle auf etwa 350 mg, blieb aber meistens unter 300 mg. Bei Darbietung 30 von Kaliumnitrat aber erzielte er in eisenfreien Zuchten z. B. nach 11 Tagen 195 mg, nach 24 Tagen 380 mg, nach 90 Tagen 305 mg, während eisenhaltige Zuchten nach 18 Tagen 165 mg und in einem anderen Falle 325 mg, nach 120 Tagen 300 mg ergaben. Es trat also die fördernde Wirkung nicht deutlich hervor. Allerdings lassen es, wie 35 WEHMER selbst betont, die erwähnten Zahlen an der notwendigen Uebereinstimmung fehlen. Es wäre sehr erwünscht, seine Befunde mit tunlichst reinen Substanzen nachzuprüfen. Diesem Forscher zufolge wird in eisenhaltigen Lösungen das Eisen quantitativ vom Pilze aufgenommen und in irgend einer Weise in oder an den Zellen gespeichert. 40

Einige wenige Versuche über den Einfluß des Eisens auf die Entwicklung von *Aspergillus niger* stellte BENECKE (2) an. Es gelang ihm gelegentlich, durch Eisenentzug die Konidienbildung zu hemmen; ein einigermaßen vollständiges Einstellen des Wachstums durch Eisenmangel konnte aber nicht beobachtet werden. 45

Ebenso wie WEHMER erklären auch viele andere Forscher das Eisen für entbehrlich, so COUPIN (1), der ebenfalls *Aspergillus niger* prüfte. Sehr viele tun dies stillschweigend, indem sie den Nährlösungen kein Eisen zusetzen, andere unter ausdrücklichem Hinweis auf die Entbehrlichkeit, so RACIBORSKI (1) für *Basidiobolus ranarum*, STERN (1) für Hefe. Anderer- 50 seits erklärt STOKLASA (1) das Eisen als unentbehrlich für *Bacillus megaterium*. Vor kurzem hat auch KANTER (1) die Beobachtung von MOLISCH für *Aspergillus* bestätigt; Eisen war, wenn auch in sehr ge-

ringer Menge, zum Wachstum nötig. Zinksulfat äußerte auch in den Versuchen dieses Forschers die schon oft erwähnte Wirkung auf die Fortpflanzung. Das Mangan vermochte nicht, das Eisen zu vertreten. Das Maximum des Zusatzes von Eisencitrat lag unterhalb 2,5 Proz., bei 5 welcher Verdünnung die Konidien nicht mehr keimten.

Was den dissimilatorischen Stoffwechsel mit und ohne Eisenzusatz angeht, so ist Genaues darüber nicht bekannt; immerhin konnte WEHMER (1) feststellen, daß eisenhaltige Zuchten des *Aspergillus niger*, in denen Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle diente, eine geringere Oxalsäure-10 ansammlung zeigten als eisenfreie, doch nur bei Lichtzutritt. Im Dunkeln sowie bei Darbietung von Kalinitrat beeinflußten Eisengaben die Säurebildung nicht. BENECKE (2) fand auch an Dunkelzuchten (Rohrzucker, Ammoniumphosphat, Kaliumphosphat, Magnesiumsulfat; Temp. 30°) desselben Pilzes eine Herabminderung der Oxalsäureansammlung infolge Zu-15 satzes von Eisenchlorid oder Eisenvitriol. Zu ähnlichen Befunden ist, wie oben (§ 77) schon gesagt, später ONO (1) bei Verwendung anderer Reizmittel gelangt. Der Fall ist aber noch genauer zu untersuchen.

Ist demnach die Frage, ob Eisen ein unentbehrlicher Nährstoff sei, noch nicht für entschieden zu erachten, so ist doch dessen Reizwirkung 20 noch für andere als die schon genannten Fälle außer Zweifel gestellt. Für die Hefenvermehrung und die Gärung wurde dies neuerdings durch KOSSOWICZ (1) erwiesen. *Sacch. cerevisiae I* HANSEN vermehrte sich in einer gezuckerten Nährlösung ohne Eisenzusatz von 10000 auf 226 Millionen Zellen, mit 0,001 Proz. Ferrosulfat auf 320 Millionen, mit 0,005 Proz. 25 auf 340 Millionen. Weniger günstig war Eisenchlorid; ein Zusatz von 0,00106 Proz. ergab 260, ein solcher von 0,0053 Proz. 300 Millionen Zellen in 100 ccm binnen 36 Tagen. Auch die an der Gewichtsabnahme der Gärkolben gemessene Gärung wurde durch Ferrosulfat weit mehr gefördert als durch Eisenchlorid. Die fördernde Wirkung des Eisens 30 auf die Vermehrung der Preßhefe hatte schon MOLISCH (1), und zwar durch Wägung des Ernte-Trockengewichtes, festgestellt.

Ueber die Rolle, welche das Eisen im Leben der sogen. Eisenbakterien spielt, wird das 7. Kapitel des III. Bandes ausführliche Angaben bringen.

§ 85. Schwefel und Phosphor.

35 Die Bedeutung des Schwefels für die Pilze und der Quellen, aus welchen er bezogen wird, lassen sich mit wenigen Worten erledigen. Da alle Eiweißkörper (im engeren Sinne), soweit man weiß, schwefelhaltig (s. S. 224) sind, und gegenteilige Angaben (z. B. betreffend das Mykoprotein NENCKI's, s. S. 243) damit erklärt werden, daß bei der 40 „Reindarstellung“ der Eiweißkörper eine Abspaltung des Schwefels stattgefunden habe, ist der Bedarf der Pilze, wie der aller anderen Organismen, an dem in Rede stehenden Elemente ohne weiteres einleuchtend. Trotzdem dürfte es bisher in den wenigsten Fällen gelungen sein, die Notwendigkeit von Schwefelverbindungen für den Stoffwechsel der Pilze 45 experimentell zu erweisen. Gewöhnlich wird der Schwefel als Sulfat, also als SO_4-Ion, den Nährlösungen zugesetzt; wird es aber fortgelassen, ohne daß eine andere Schwefelquelle an seine Stelle tritt, so unterbleibt in den meisten Fällen das Wachstum nicht, sondern wird manchmal bloß vermindert und geht in anderen Fällen sogar ganz unbeschadet 50 weiter. Diese Tatsache erklärt man im allgemeinen damit, daß den

anderen Nährstoffen Schwefelverbindungen als Verunreinigungen an hängen, oder daß Schwefelverbindungen flüchtiger Natur aus der Laboratoriumsluft in die Lösung gelangen. Die Schwierigkeit, Zucker vollkommen von jenen zu befreien, erkannte schon AD. MAYER (1), und NÄGELI (1) fand, daß in Pilzdecken, die in scheinbar schwefelfreien 5 Nährböden herangewachsen waren, sich mittels Bleipapier doch Schwefel nachweisen ließ, der also aus Verunreinigungen herstammen mußte. Andere Forscher schlossen aus dem Befunde, daß Schwefelentzug das Wachstum nicht hemmt, auf die Entbehrlichkeit dieses Elementes, so z. B. auch FRÄNKEL (1), der für viele saprotrophe und paratrophe Bakterien eine 10 schwefelfreie Nährlösung empfiehlt. Nach BEIJERINCK (9) wachsen Essigsäurebakterien, *Bac. coli communis* und *Bac. lactis aerogenes* mit und ohne Schwefelverbindungen gleich gut. In allen diesen Fällen sind weitere Untersuchungen erwünscht.

Einige besondere Angaben verdanken wir GÜNTHER (1). Diesem 15 zufolge entwickelt sich *Rhizopus nigricans* auf Zuckerlösungen ohne Sulfatzusatz fast ganz normal. Auf Glycerinlösung hingegen tritt ohne Schwefelzufuhr nur ganz geringes Wachstum ein. Es genügt aber schon ein Zusatz von 0,01 mg Natriumsulfat, um normales, kräftiges Wachstum zu ermöglichen. Eine Steigerung dieser Gabe hat bemerkenswerterweise 20 keine Mehrung (aber auch keine Minderung) der Erntegröße zur Folge. Wenn CZAPEK (3) fand, daß Ammoniumsulfat für *Aspergillus* eine bessere Stickstoffquelle ist als Salmiak, so beruht dies somit sicher nicht darauf, daß im ersten Fall auch das Anion ein Nährelement enthält, sondern darauf, daß die Nährlösung weitergehend ausgenutzt werden kann. 25 (Näheres s. § 86.)

Selenate können die Sulfate nach GÜNTHER schon deshalb nicht ersetzen, weil sie sehr giftig sind; bereits 0,0005 Proz. Natriumselenat hemmt das Auskeimen der Sporen von *Rhizopus* auf Glycerin-Mineralsalz-Nährlösung. Nach NÄGELI (1) kann man bei Pilzen das Sulfat 30 durch schwefligsaure und unterschwefligsaure Salze ersetzen. Auch unterschwefelsaure Salze sind brauchbar, wie BENECKE (2) fand, aber doch zweckmäßig in starker Verdünnung anzuwenden.

Nach den obigen Ausführungen ist natürlich vorläufig aus diesen Befunden nur das Eine zu entnehmen, daß die genannten Salze nicht 35 schädigend wirken, keineswegs aber, daß sie den zum Aufbau nötigen Schwefel lieferten. Und wenn umgekehrt NÄGELI behauptet, daß Sulfoharnstoff und Rhodanammonium zu dem Zwecke nicht taugen, so ist es richtiger, diesen Befund dahin zu deuten, daß diese Stoffe auf die von ihm untersuchten Pilze eine hemmende Wirkung ausübten. 40

Bei der gekennzeichneten Sachlage ist auch nicht zu sagen, ob es obligat schwefelheterotrophe Pilze gibt, etwa Bakterien, die den Schwefel nur aus Eiweißkörpern entnehmen können. Auch aus anderen Befunden über Verwertung von organischen Schwefelverbindungen, z. B. des Senföls durch *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*, verschiedener 45 Sulfosäuren zufolge LOEW (6) und des Taurins zufolge CZAPEK (3), ist nicht sicher zu ersehen, ob es sich dabei um Aufnahme des Schwefels aus organischer Bindung gehandelt hat.

Oben (§ 83) wurde schon erwähnt, daß wahrscheinlich das SO_4-Ion für die Farbstoffbildung durch Bakterien von Bedeutung ist. Große 50 Wichtigkeit kommt verschiedenen Schwefelverbindungen im Stoffwechsel der sogen. Schwefelbakterien zu; über diese wird das 8. Kapitel des III. Bandes handeln.

Gewöhnlich wird der **Phosphor** in seiner Bindung als Orthophosphorsäure geboten, aber auch Meta- und Pyrophosphorsäure sind tauglich. Vielfach sind zweifellos auch organische Phosphorverbindungen von gutem Erfolge, ob es aber obligate phosphorheterotrophe Bakterien und Pilze gibt, auf deren mögliche Existenz Pfeffer (2) hinweist, ist fraglich. Iwanow (2) konnte verschiedene Schimmelpilze, wie *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* und *Mucor*, mit Thymonucleinsäure als Stickstoff- und Phosphorquelle füttern. Es dürfte sich in diesem Falle aber nicht eigentlich um Aufnahme des Phosphors aus organischer Bindung gehandelt haben, sondern vermutlich ist die aus jener Säure abgespaltene Phosphorsäure assimiliert worden. Aehnliches dürfte wohl auch für die Untersuchungen von Schittenhelm und Schröter (1) gelten, in denen Bakterien mit Thymonucleinsäure gefüttert worden waren (s. § 87). Im übrigen ist zu bemerken, daß mit der Ergiebigkeit der Phosphatzufuhr auch die Ergiebigkeit der Nährlösung sinkt. Je nach den sonstigen Bedingungen ist entweder die Fortpflanzung an höhere Phosphatgaben gebunden als die vegetative Entwicklung, oder es werden beide Arten von Wachstum in gleich großem Maße gehemmt. Daß allenfalls nur sehr geringe Mengen von Phosphaten nötig sind, zeigte Günther (1), welcher fand, daß schon Zugabe von 0,0000001 Proz. (?) sauren Natriumphosphates genügen, um bei *Rhizopus nigricans* geringes Wachstum mit etwas gehemmter Sporenbildung eintreten zu sehen. Angaben, daß der Phosphor ganz entbehrt werden könnte, sind mit Vorsicht aufzunehmen. Behauptet wurde das von Samkow (1) für gewisse Pigment-Bakterien, die ohne Phosphatzufuhr zwar keinen Farbstoff bilden, jedoch wachsen sollen. Auch den Mitteilungen Holtermann's (1, 2), daß es gelungen sei, in phosphorfreien Nährlösungen Pilze zu züchten, kommt keine Beweiskraft zu.

Weil die Phosphorsäure eine mittelstarke Säure und zugleich ein Nährstoff ist, empfiehlt es sich oft, die Ansäuerung von Nährlösungen für Schimmelpilz-Zuchten mittels dieser anstatt starker Säuren zu bewirken. Dabei machte Wehmer (1), wie nebenher bemerkt sei, die eigenartige Beobachtung, daß durch solchen Zusatz von Phosphorsäure der Aschengehalt des Pilzes ungeheuer in die Höhe getrieben werden kann, nämlich von 4 auf 22 Proz. (*Aspergillus niger*).

Bei dem Nährwert der Phosphorsäure kann es nicht wundern, daß diese (wie auch Sulfate) nach Cramer (2) aus verdünnten Nährlösungen viel reichlicher entnommen und gespeichert wird als etwa das Chlor, was der genannte Forscher an Zuchten des Cholerabazillus beobachtet hat.

Die aufgenommenen Phosphate werden im Pilzkörper, ähnlich wie in den Samen höherer Pflanzen, in organische Bindung übergeführt. Iwanow (1) verdankt man die Kenntnis, daß bei Agaricineen diese Umwandlung noch nicht im Stiele, aber schon im Hute, nicht erst in den Sporen stattfindet.

Ueber die Beziehung der Farbstoffbildung der Bakterien zur Phosphatzufuhr hat schon der § 83 das Wichtigste mitgeteilt. Es sei dem noch hinzugefügt, daß Christomanos (1) zwei Rassen des *Bac. pyocyaneus* untersucht hat, welche, im Gegensatz zu Thumm's Befund (s. S. 289), durch Phosphormangel zur Bildung von Pyocyanin angeregt wurden.

Eine Vertretbarkeit des Phosphors, etwa durch Arsen oder Antimon, ist bei Pilzen ebensowenig wie bei höheren Pflanzen nachgewiesen worden.

§ 86. Stickstoffquellen für Eumyceten.

Die Frage nach der Aufnahme des Stickstoffes durch Pilze ist nicht nur darum besonders wichtig, weil sie innig mit der anderen nach dem Aufbau des Eiweißmoleküls verknüpft ist, sondern auch darum, weil gerade bei diesem Elemente die Verbindungsform eine ausschlaggebende 5 Rolle spielt. Die Versuche, auf Grund dieser die Pilze in Gruppen zu sondern, führen auf NÄGELI (1) zurück. Heute können wir, in Anlehnung an BEIJERINCK (2) und JOST (1) die Pilze etwa in folgende, durch die verschiedenartigen Ansprüche an die Stickstoffzufuhr charakterisierte Gruppen teilen. 1. Nitrogen-Pilze. Diese nehmen den freien 10 Stickstoff auf und binden ihn. Bei ihnen herrscht also Stickstoff-Prototrophie. — 2. Ammon-, Nitrit-, Nitrat-Pilze. Diese schöpfen den Stickstoff aus anorganischer Bindung; eine Minderzahl von ihnen ist geradezu auf Zufuhr anorganisch gebundenen Stickstoffes angewiesen und verschmäht organische Stickstoffverbindungen (nitrifizierende Orga- 15 nismen), die Mehrheit hingegen kann sowohl aus anorganischer als aus organischer Quelle schöpfen. Hier herrscht also obligate und fakultative Stickstoff-Autotrophie. — 3. Amid- und Pepton-Pilze. Diese sind auf organische Stickstoffverbindungen angewiesen, unter welchen Aminoverbindungen, Peptone, Albumosen usw. eine besonders große Rolle 20 spielen. Hier haben wir also Stickstoff-Heterotrophie bzw. Stickstoff-Paratrophie, falls es sich um Parasiten handelt.

Die unter 1 und 2 eingeteilten Arten bedürfen natürlich außer der Stickstoffquelle auch noch einer Kohlenstoffquelle, und sei es auch nur die Kohlensäure. Bei den Amid- und Peptonpilzen ist durch die ge- 25 nannten Stickstoffverbindungen entweder das Kohlenstoffbedürfnis schon gedeckt, oder aber es ist noch eine besondere Kohlenstoffquelle, wie Zucker, organische Säuren usw., erforderlich. Pilze dieser letzteren Art nennt BEIJERINCK Amidkohlenstoff- bzw. Peptonkohlenstoff-Pilze. Beispiele solcher sind von technisch wichtigen Pilzen z. B. die Saccharo- 30 myceten. Diese Ausführungen zeigen uns sofort, daß wir im folgenden die Aufnahme des Kohlenstoffes nicht scharf von der des Stickstoffes trennen können; denn beide Elemente werden oft gemeinsam aus ein und demselben chemischen Körper bezogen.

Solche und ähnliche andere Einteilungen haben begreiflicherweise 35 immer nur heuristische Bedeutung; scharfe Grenzen fehlen, und oft genügt eine geringe Aenderung der sonstigen Züchtungsbedingungen, z. B. der Art der Kohlenstoffquelle, um einen bestimmten Pilz aus der einen Gruppe in eine andere zu werfen. Auch wird man nicht übersehen dürfen, daß die Ausdrücke Amidpilze, Peptonorganismen usw. recht viel- 40 deutige sind. Nur unter diesem Vorbehalt sollen nun in der folgenden Darstellung einige Beispiele für die verschiedenen Stickstoffquellen einiger Pilze gegeben werden.

Beginnen wir bei den Schimmelpilzen. Die Frage nach der Stickstoffprototrophie bei ihnen, und zwar bei Mykorrhizen, ist auf S. 64—69 45 des III. Bandes behandelt und soll darum hier mit einem bloßen ergänzenden Hinweis auf eine Arbeit von TERNETZ (2) abgetan sein.

Obligat stickstoffautotrophe Schimmelpilze sind bisher nicht bekannt. Wir wenden uns also sofort den fakultativ stickstoffautotrophen zu. Als ein Pilz, der besser mit anorganisch als mit organisch gebundenem 50 Stickstoff auskommt, ist der Soorpilz zu nennen, der nach LINOSSIER und ROUX (1) mit Ammon besser als mit Glycocoll, Tyrosin oder Asparagin

gedeiht, Nitrate aber verschmäht und mit Harnstoff oder mit Acetamid noch schlechter als mit Aminosäuren auskommt. Für die allermeisten der anderen aber gilt, daß sie organisch gebundenen Stickstoff, wenn in passender Form geboten, vorziehen; dies trifft für viele der gewöhnlich gezüchteten, z. B. der *Aspergillus*- und *Penicillium*-Arten, zu, wenn diese auch unter Umständen mit Ammon oder Nitrat fast ebensogut gedeihen. Zwei Arten, von denen ausdrücklich angegeben wird, daß sie bei Zufuhr von anorganischer oder von organischer Stickstoffnahrung (Pepton, Ammon, Nitrat) gleich gut wachsen, sind *Peziza sclerotiorum* nach DE BARY (1) und *Aspergillus Ostianus* nach WEHMER (4). Von Pilzen, die hingegen mit anorganischem Stickstoff (Ammon) nur eben noch gedeihen, eigentlich aber auf organischen angewiesen sind, wären *Sporodinia grandis* nach FALCK (1) und *Hormodendron Hordei* nach BRUHNE (1) als Beispiele zu nennen. Besonders beachtenswert sind auch spezifische Unterschiede zwischen nahe verwandten Arten. *Ustilago Jensenii*, *U. Avenae*, *U. perennans* gedeihen nach HERZBERG (1) am besten bei Peptonzufuhr; es folgen der Güte nach absteigend Asparagin, weinsaures und schwefelsaures Ammon, Natriumnitrat. Für *Ustilago Hordei* und *U. Tritici* hingegen sind Asparagin, Pepton und Ammon gleichwertige Stickstoffquellen, wenn d-Glucose als Kohlenstoffquelle geboten wird.

Gehen wir nun zu der oft erörterten Frage über, ob unter den anorganischen Stickstoffquellen das **Ammon oder Nitrat** im allgemeinen vorgezogen werden. Sie wird meistens, und mit Recht, dahin beantwortet, daß die Ammoniumsalze eine bessere Stickstoffquelle abgeben. Doch sind auch ein paar Ausnahmen zu nennen: so gibt WEHMER (1) bestimmte Nährlösungen und Züchtungsbedingungen an, unter denen *Aspergillus niger* mit Kaliumnitrat besser als mit Ammoniumnitrat gedeiht (allerdings sind andere Ammoniumsalze noch bessere Stickstoffquellen). Und nach WENT (2) kommt *Monilia* besser mit Nitraten als mit Ammoniumsalzen aus. Viele, aber noch durchweg auf ihre Verallgemeinerungsfähigkeit hin zu prüfende Angaben verdanken wir LAURENT (1). Er fand, daß in einer mit Zucker und Weinsäure versetzten Nährsalzlösung *Penicillium glaucum* und *Botrytis cinerea* besser mit Ammon als mit Nitraten gedeihen, *Alternaria tenuis*, *Mucor racemosus* und *Aspergillus glaucus* aber sich umgekehrt verhalten. Die typische Form von *Cladosporium* soll mit Nitraten, die dematiumähnliche hingegen mit Ammon besser auskommen und es soll infolge dessen nach Belieben die eine oder die andere hervorzurufen sein. Umgekehrt sei die Sache bei *Oidium*. Die „Mycolevure“ zog Ammon entschieden den Nitraten vor. Es finden sich bei LAURENT auch Angaben über die Fähigkeit der genannten Pilze, Nitrate zu reduzieren. Haben wir hier schon einige gestaltgebende Wirkungen der Zufuhr von Ammon oder von Nitraten kennen gelernt, so sind solche auch noch durch andere Forscher festgestellt worden. So finden wir bei RACIBORSKI (1) die Angabe, daß *Basidiobolus ranarum* mit Hilfe der Nitrate sich nur sehr kümmerlich entwickeln kann, gut hingegen mit Ammoniumsalzen (Chlorid, Nitrat, Sulfat), aber palmellaähnliche Gestalten bildet; Diammoniumphosphat jedoch bewirkte solche Umwandlung nicht. Es bleibt wohl noch zu untersuchen, inwieweit die allmählich eintretende Aenderung der Reaktion der Nährlösung hierbei mitwirkt. Denn großenteils hängt die Eignung der einen oder der anderen Verbindungsform gar nicht mit der Oxydationsstufe des Stickstoffes sondern mit der Tatsache zusammen, daß bei Darbietung von Nitraten im allgemeinen die Nährlösung allmählich alka-

lisch, bei Darbietung von Ammoniumsalzen, etwa dem Sulfat oder Chlorid, aber sauer wird, und daß es im ersten Falle davon abhängt, ob der Pilz durch regulatorische Bildung von Säure der Alkalescenz entgegenzuarbeiten vermag, und im letzteren Falle davon, wie viel Säure er verträgt. Wenn BRUHNE (1) beobachtete, daß Ammoniumkarbonat 5 sich für *Hormodendron Hordei* günstiger als Ammoniumnitrat erwies, so ist das wohl auch auf die Reaktion der Lösung zurückzuführen.

Die letztgenannten Ergebnisse leiten zu der Frage nach den **günstigsten Ammonsalzen** hinüber, oder, wie wir uns, wenn es sich um Salze starker Säuren handelt, richtiger ausdrücken, zu der Frage nach 10 jenen Anionen, die, zusammen mit dem Kation Ammonium, am besten zu wählen sind. Neuere vergleichende Untersuchungen an *Aspergillus niger* mit dem Nitrat, dem Chlorid und dem Sulfat verdanken wir BUTKEWITSCH (1). Die günstigste Ausbeute erreichte er mit dem letzten, die schlechteste mit dem erstgenannten Anion; die Kräftigkeit der Pilz- 15 entwicklung war der Menge des verbrauchten Ammoniums proportional, und diese wiederum war umgekehrt proportional der Stärke der Affinität der Säure zum Ammonium. Da diese bei Schwefelsäure am kleinsten, bei Salpetersäure am größten ist, erklärt sich der obige Befund ganz leicht: Die Ausnutzbarkeit der Lösung hing von dem Grade der Säuerung 20 ab; sie ging um so weiter, je geringer die letztere bei gleich großem Verbrauch an Ammon war. Die folgende kleine Tabelle, welche der citierten Arbeit des genannten Forschers entnommen ist, verdeutlicht das Gesagte:

	mg verbrauchter Stickstoff	Trockengewicht	Affinität d. Säure zu NH_4 25
H_2SO_4	197	2,9	53
HCl	142	2,1	96
HNO_3	131	1,8	100

Auch NIKITINSKY (2) fand, daß bei Darbietung von Ammoniumsalzen das allmähliche Sauerwerden der Nährlösung deren Ausnutzbarkeit eine 30 Grenze setzt, und daß es genügt, nach Abernten einer Decke die Säure zu neutralisieren, um von ein und derselben Lösung noch mehrere Ernten erhalten zu können. Im Uebrigen gestattete, falls die Neutralisierung unterblieb, sowohl das Ammoniumsulfat als auch das Nitrat die Erzielung einer größeren Reihe von Ernten als das Chlorid. Je giftiger die 35 entsprechende Säure ist, um so niedriger fällt die Ernte aus, die man mit deren Ammoniumsalz erreichen kann. So erklärt sich auch leicht NIKITINSKY's Befund, daß stärkere Konzentration der Kohlenstoffquelle (Zucker, Glycerin etc.) die Anzahl aufeinanderfolgender Ernten, welche man ohne Neutralisierung erreichen kann, drückt, weil sie schnellere 40 Entwicklung, daher auch früheres Erreichen des schädlichen Säuerungsgrades bewirkt.

Der auf diese Befunde sich berufenden Erwartung, daß *Penicillium*, welches nach CLARK (1) gegen anorganische Säuren nicht so widerstandsfähig ist als *Aspergillus*, Ammoniumsalz-Nährlösungen weniger weitgehend 45 ausnutzen könne, entsprechen auch die Tatsachen. Sonst aber sind noch kleinere Widersprüche auszugleichen. BUTKEWITSCH erreichte mit Ammoniumchlorid, NIKITINSKY mit Ammoniumnitrat bessere Erfolge, obwohl beide den *Aspergillus niger* unter ähnlichen Verhältnissen züchteten, bei einer Temperatur von 25—28° und unter Verwendung der 50 Ammoniumsalze in solchen Mengen, daß diese gleich viel Ammon enthielten. Näherer Untersuchung wert ist die Tatsache, daß bei Fütterung

mit Ammoniumnitrat die Salpetersäureansammlung der Entwicklung eine Grenze setzt, und daß der Pilz nicht durch Verbrauch dieser (an Stelle des Ammons) der zu weitgehenden Säuerung entgegenarbeitet, was um so auffallender ist, als *Aspergillus* bei Zufuhr von Nitrat allein ganz gut gedeiht. Es führt uns dies wieder auf die oben schon erörterte Frage nach der elektiven Aufnahme von Ammon und Nitrat; es sei deshalb auf S. 361 zurückverwiesen.

Angesichts dieser Sachlage empfiehlt es sich häufig, solche Ammoniumsalze zu wählen, deren Anionen sich nicht in schädlicher Weise ansammeln, sondern ebenfalls dem Stoffwechsel verfallen, also Nährwert besitzen, z. B. phosphorsaures Ammon, bei welchem außerdem eine zu weitgehende Säuerung infolge Ammonverbrauches nicht zu befürchten ist, oder organische Ammoniumsalze, wie essigsaures, oxalsaures, weinsaures, citronensaures Ammon usw.; doch ist es in diesen Fällen auch dann, wenn die Säure an sich eine ausreichende Kohlenstoffquelle bietet, geraten, noch eine besondere zweite, wie Zucker u. dgl., zuzugeben, da sonst leicht ein Ueberschuß an Ammon und damit Entwertung der Nährlösung sich einstellt.

Viele Untersuchungen über die Eignung von Ammoniumsalzen für *Aspergillus niger* verdanken wir auch CZAPEK (3). Seine Angabe, daß Chlorammonium überhaupt kein Wachstum erlaube, steht in geradem Gegensatz zu den Beobachtungen aller andern Forscher und ist also schwer zu erklären; weiter fand er, daß phosphorsaures wie auch zumal glycerinphosphorsaures Ammon sehr empfehlenswert ist, da letzteres auch eine besonders gute Kohlenstoffquelle abgibt. Die Ammoniumsalze der Fettsäurereihe bezeichnet er als untauglich und erklärt dies mit deren geringer elektrolytischer Dissoziation; von anderen Forschern aber ist Ammoniumacetat als stets tauglich befunden worden. Die stark dissoziierten Ammonsalze der Oxalsäure-Reihe sind nach CZAPEK hingegen vortrefflich geeignet; am wenigsten taugt noch das der Adipinsäure. Als hervorragend gut brauchbar erwiesen sich die Ammoniumsalze der Oxyfettsäuren, insbesondere das der β-Oxybuttersäure, welches sogar den sonst an erster Stelle stehenden Aminosäuren den Rang streitig macht. Der genannte Forscher meint, daß dies vielleicht damit zu erklären sei, daß diese Salze unter Wasseraustritt zu Aminosäuren werden, welch letztere er als die nächst dem Eiweiß günstigste Stickstoffquelle bezeichnet. Denkbar wäre aber auch, daß die Aminosäuren deshalb so gut sind, weil sie leicht in oxyfettsaure Ammoniumsalze übergehen, und daß von diesen aus dann die aufbauende Tätigkeit des Pilzes beginnt. Auf die weiteren Befunde CZAPEK's kommen wir nachher zurück.

Die dritte Gruppe anorganischer Stickstoffverbindungen, nämlich die Nitrite, sind kurz damit abzufertigen,. daß wir sie als eine im allgemeinen für die Eumyceten minderwertige oder sogar ganz ungeeignete Nahrung bezeichnen; für *Aspergillus* hat dies RAULIN (1) erkannt. Andrerseits begegneten WINOGRADSKY und OMELIANSKI (1) einem Schimmelpilz, welcher Nitrit verarbeitete.

Wir gelangen nun zur Behandlung der **Stickstoff-Heterotrophie.** Ganz besonders bedeutungsvoll für die Bewertung einer organischen Stickstoffverbindung als Stickstoffquelle ist die Frage, ob gleichzeitig noch eine andere Kohlenstoffquelle geboten wird oder nicht, wie oben schon anläßlich der Wiedergabe der BEIJERINCK'schen Einteilung betont wurde. Hierfür zunächst ein Beispiel: *Hormodendron Hordei* wächst, wie BRUHNE (1) fand, schlecht bei alleiniger Darbietung von

Leucin oder gar Asparagin als Kohlenstoff-Stickstoffquelle, gut aber dann, wenn diese Aminosäuren bloß den Stickstoffbedarf zu decken haben und für den Kohlenstoffbedarf etwa durch Zucker vorgesorgt ist. Pepton dagegen ist eine gute Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. Der Pilz ist also, um Beijerinck's Bezeichnungsweise auf ihn anzuwenden, ein Amid-Kohlenstofforganismus oder ein Peptonorganismus.

Daß organisch gebundener Stickstoff häufig erst in Verein mit noch anderen Kohlenstoffquellen seinen vollen Nährwert entfalten kann, ist übrigens seit Nägeli (1) bekannt; mit Besprechung einiger Befunde dieses Forschers wenden wir uns der etwas eingehenderen Betrachtung einiger Arbeiten über die Zufuhr organisch gebundenen Stickstoffes zu, die, soweit tunlich, in historischer Reihenfolge erledigt werden sollen.

Nägeli stellte für *Penicillium* fest, daß die Reihenfolge von Kohlenstoff- und Stickstoffquellen, von der besten zur mindesten fortschreitend die folgende ist: 1. Pepton und Zucker, 2. Leucin und Zucker, 3. weinsaures Ammon oder Salmiak und Zucker, 4. Pepton, 5. Leucin, 6. weinsaures oder bernsteinsaures Ammon oder Asparagin, 7. essigsaures Ammon. Hier erweist sich also Pepton, falls es ohne weitere Kohlenstoffquelle geboten wird, minderwertiger als die Kombination von Zucker und Ammoniumsalzen. Viele Einzelangaben Nägeli's über die Eignung verschiedener organischer Stickstoffquellen für Pilze werden unten noch beizubringen sein. Hier soll der Hinweis genügen, daß dieses Forschers Annahme, es sei direkt an Kohlenstoff gebundener Stickstoff untauglich, dahin einzuschränken ist, daß im allgemeinen solcher Stickstoff zwar nicht gut nährt aber doch auch nicht ganz wertlos ist. Denn Reinke fand, daß Nitrile brauchbar sind, Pfeffer (1), daß Amygdalin oder Cyankalium den Stickstoffbedarf decken können. Vgl. auch Czapek (3).

Vielfach hat sich später und bis in die neueste Zeit das Interesse der Frage nach der Eignung von **Amidkörpern** zugewendet. So verdanken wir u. a. Loew (2) Angaben über den Nährwert von Aminosulfonsäure für Humuspilze (auch Bakterien und Bierhefe). Gleichfalls bemerkenswerte und eingehender zu behandelnde Mitteilungen macht Raciborski (1) für *Basidiobolus ranarum* und andere Pilze; mit Bedacht verallgemeinerte er seine Ergebnisse nicht zu stark, sondern wies auf spezifische Unterschiede hin. Meist zeigte sich bei Darbietung von Aminosäuren oder ähnlichen Stoffen als gemeinsamer Kohlenstoff- und Stickstoffquelle Kohlenstoffhunger, d. h., es konnte durch Zusatz von Zucker usw. der Nährwert erheblich aufgebessert werden. Immerhin gedeiht *Basidiobolus* auch auf Kosten von Glycocoll als gleichzeitiger Kohlenstoff- und Stickstoffquelle gut, besser schon, wenn ihm Aminopropionsäure, und noch besser, wenn Aminocapronsäure oder Aminobernsteinsäure geboten wird. Auch für *Absidia* ist Aminopropionsäure eine gute Kohlenstoff- und Stickstoffquelle, nicht aber auch für *Penicillium*. Formamid, Urethan, Hydantoin, Asparagin taugen für *Basidiobolus* nicht viel, Methylglycerin und Kreatin sind wieder gut, Hippursäure hingegen nicht. Jedoch für *Penicillium Poiraulti* ist die letztgenannte Säure als gemeinsame Stickstoff- und Kohlenstoffquelle gut zu brauchen. Aus dem Gesagten geht schon hervor, daß der Nährwert vieler dieser Körper, z. B. des Asparagins, durch Zugabe von Zucker ungemein aufgebessert werden kann; es tritt aber dabei gerne der palmellaähnliche Zustand der Zellen ein, ähnlich wie bei Fütterung mit Ammon unter bestimmten Bedingungen. Dadurch, daß die Pilze bei alleiniger Darbietung von Aminosäuren nicht selten an Kohlenstoffhunger leiden, erklärt sich wohl auch die Erfahrung

Raciborski's (1), daß der Nährwert der Aminosäuren als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle mit deren Kohlenstoffgehalt steigt.

Da eben von Hippursäure die Rede war, sei gleich einiges weitere über diese Säure hier mitgeteilt. Wie Pfeffer (2) angibt, wird diese 5 durch Pilze in Benzoesäure und Glycocoll gespalten. Wird sie nun als einzige Kohlenstoff- und Stickstoffquelle geboten, so verläuft das Wachstum zwar nur langsam, wird aber nicht durch Stoffwechselprodukte gehemmt. Mit Zucker gemeinsam geboten, fördert sie das Wachstum zunächst zwar sehr stark, aber bald wird die Nährlösung zu weiterer Pilzentwicklung 10 ganz ungeeignet. Nikitinsky (2), dem wir diese Erfahrung verdanken, erklärt sie damit, daß im ersten Falle die Benzoesäure als Kohlenstoffquelle dient, im letzteren aber, durch den Zucker geschützt, sich ansammelt und so eine schädliche Konzentration in der Nährlösung erreicht. Daß Benzoesäure für Schimmelpilze assimilierbar ist, hatten schon 15 Nägeli (1) und Reinke (1) beobachtet.

Während in den bisher angeführten und auch in den später noch zu betrachtenden Untersuchungen der Nährwert an dem sichtbaren oder durch die Wage festzustellenden Ertrage der Nährlösung gemessen wurde, schlug Klebs (1) einen anderen Weg ein: je schlechter die Ernährung 20 von *Saprolegnia* war, um so eher trat Sporangienbildung ein, je später aber diese zu beobachten war, um so besser war umgekehrt die Nährlösung. So ermittelte Klebs in Uebereinstimmung mit Raciborski, daß viele Aminosäuren gute gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquellen sind, und daß mit steigendem Kohlenstoffgehalt deren Nährwert zunimmt. 25 Leucin war ebensogut wie Pepton. Sarkosin und Betain erwiesen sich als ungünstig, Asparagin und Glutamin nicht so gut wie die entsprechenden Aminosäuren selbst. Tyrosin war ein guter, Kreatin, Parabansäure, Harnsäure und Allantoin ein geringwertiger, Harnstoff ein schlechter Nährstoff. Alle waren ohne Zusatz einer weiteren Kohlenstoffquelle ver- 30 wendet worden.

Eingehende Untersuchungen über die Eignung von Aminen, quaternären Ammoniumbasen und Alkaloiden als Stickstoffquelle bei Darbietung von Zucker und Weinsäure als Kohlenstoffnahrung stellte Lutz (1) an. Geprüft wurden *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* in Raulin'scher 35 Nährlösung, aus welcher das Ammoniumnitrat weggelassen, und die außerdem so verändert war, daß in zu vergleichenden Versuchen immer dieselben Mengen von Kohlenstoff und Stickstoff vorhanden waren. Viele Amine ermöglichten ein ordentliches Wachstum, und zwar im allgemeinen um so besser, je kleiner das Molekulargewicht des für den Wasserstoff 40 substituierten Kohlenwasserstoffrestes war. Monomethylamine wirkten besser als Dimethylamine, diese wieder besser als Trimethylamine. Beim Vergleich von Mono-, Di- und Trialkylaminen mit gleichem Molekulargewicht zeigte sich, daß die letztgenannten die besten Nährstoffe waren. Im allgemeinen wirkten die zuträglichsten Amine etwa oder fast ebenso- 45 gut wie Ammoniumnitrat. Untauglich waren die quaternären Ammoniumbasen und auch die Alkaloide (Coffein, Cocain, Morphin, Piperidin). Auch Pyridin ließ sich nicht verwerten. Naphtylamin und Diphenylamin wirken giftig. Interessant ist das Ergebnis, daß Pyridin, ferner die Alkaloide, d. h. Substanzen, die als alleinige Stickstoffquellen versagten, 50 dann assimilierbar wurden, wenn sie gleichzeitig mit Ammoniumnitrat geboten wurden. Dies wurde daraus erschlossen, daß bei Zugabe von Ammoniumnitrat der Gehalt der Nährlösung an den genannten organischen Stickstoffverbindungen abnahm, und daß das Erntegewicht über

die Höhe desjenigen solcher Decken stieg, denen lediglich Ammoniumnitrat zur Verfügung gestanden hatte.

WENT (1) untersuchte *Monilia sitophila* mit folgendem Ergebnisse. Als gleichzeitige Kohlenstoff- und Stickstoffquellen tauglich waren: Asparagin, Tyrosin, Glycocoll, Asparaginsäure. Nur in Verein mit einer 5 anderen Kohlenstoffquelle nährten Harnstoff, Kreatin, Alanin, Leucin, Hippursäure. Man beachte die spezifischen Unterschiede zwischen diesem und den zuvor genannten Pilzen.

Ungemein umfassende Untersuchungen verdankt man CZAPEK (3). Dieser Forscher ging von der Annahme aus, daß Aminosäuren als Produkte 10 nicht sehr tiefer Spaltung der Eiweißkörper eine besonders gute Nahrung sein müßten, weil die Eiweißsynthese aus ihnen offenbar leichter stattfinden kann als aus anderen Verbindungen. Sein Versuchsobjekt war *Aspergillus niger*, den er bei 28° hielt. Die Decken wurden gewogen, wenn deren Entwicklung, nach dem Augenscheine zu urteilen, den 15 Gipfelpunkt erreicht hatte. Der Nährwert wurde nach dem Erntegewicht und nach dem Stickstoffgehalt der Decken beurteilt. Tatsächlich zeigte auch ein vergleichendes Studium an einprozentigen Lösungen der Ammoniumsalze, Säureamide, Nitrile, Aminosäuren, Amide der Aminosäuren, Ammonsalze der Oxysäuren und Diaminosäuren, daß, im Einklang 20 mit der das Leucin betreffenden Beobachtung NÄGELI's, die Aminosäuren nächst den Eiweißstoffen die beste Stickstoffquelle vorstellen, daß sie jedoch ihren vollen Nährwert im allgemeinen nur dann entfalten, wenn außerdem Zucker (3,5 Proz.) geboten wird. Nur die Aminocapronsäure lieferte auch ohne Zucker befriedigende Ergebnisse, welche aber 25 immerhin noch durch Zuckerbeigabe aufgebessert werden konnten. Allerdings ist bei einer Durchsicht der Zahlen CZAPEK's nicht zu verkennen, daß vielfach die Ammoniumsalze der Oxyfettsäuren kaum den Aminosäuren nachstanden; oxybuttersaures Ammon war sogar der Aminobuttersäure eher überlegen. Ferner ist darauf hinzuweisen, daß, wie schon 30 erwähnt, die Befunde mit Ammoniumsalzen der Fettsäuren und mit anorganischen Ammoniumsalzen sich nicht mit den bisherigen Erfahrungen anderer Forscher (s. S. 404) vereinigen lassen. — Von Aminosäuren, die herauf bis zum Leucin geprüft wurden, war am günstigsten die Aminopropionsäure. Harnstoff war schlecht, ohne Zucker sogar ganz unbrauch- 35 bar. Auch Biuret ist nicht besser. Salzsaures Guanidin ist brauchbar, Kreatin schlecht, Thioharnstoff ist ganz unbrauchbar, Sarkosin nicht so gut wie Glycocoll. Betain wirkt sehr gut, jedoch wird der Pilz in seiner Fruktifikation gestört. Tyrosin ist nicht ganz so gut wie Aminopropionsäure. Alkylamine nährten ordentlich, wenn sie als stark dissozierte 40 Salze angewendet wurden, also nicht etwa als Acetate; im großen und ganzen decken sich die Befunde darüber leidlich mit denen von LUTZ, mit Ausnahme der Erfahrung, daß sekundäre und tertiäre Methyl- und Aethylderivate besser nährten als die primären. Abweichungen vom normalen Bau der Kohlenstoffkette setzen den Nährwert herab. Wahr- 45 scheinlich wirkt Eintritt von Hydroxyl-Gruppen bei Alkylaminen immer gut ein, und wohl alle Oxyalkylamine sind besser als die entsprechenden nicht-hydroxylierten. Jedenfalls sind Cholin und Glucosamin gute Nährstoffe. Im allgemeinen rechnet CZAPEK damit, daß die Alkylamine sich um so besser eignen, je leichter sie durch Anlagerung von Kohlensäure in 50 Aminosäuren übergeführt werden können. Der Nährwert der Alkylendiamine nimmt mit steigendem Kohlenstoffgehalt zu; auch bei ihnen erachtet er, wie bei den letztgenannten, die Möglichkeit einer Umwand-

lung in Aminosäuren für vorhanden. Von Säureamiden ist nur das Acetamid tauglich, wie schon NÄGELI gefunden hatte; weniger gut läßt sich Propionamid verwerten. Säurenitrile sind alle schlecht, am besten noch Amygdalin. Amidine sind recht brauchbar, was nur zum Teil 5 durch etwaige Spaltung in Ammon und Säureamid erklärbar scheint. Daß Harnstoff und seine Substitutionsprodukte nicht an Aminosäuren und Alkylamine heranreichen, ist schon gesagt worden; CZAPEK vermutet eine Ueberführung in Ammoniumkarbonat. Die Säureureide sind alle gut. Von den Alkylhydrazinen sind einige tauglich; allerdings 10 fördern sie eine abnorme Ausbildung des Pilzes. Hydroxylaminderivate sind untauglich, wie auch schon LOEW (2) und RACIBORSKI (1) für die von ihnen untersuchten Pilze festgestellt hatten. Von aromatischen Verbindungen war Anilin ganz gut zu gebrauchen, die Aminophenole alle gut, desgleichen auch Amidol und Diaminophenole, aber immer 15 nur, wenn auch Zucker geboten wurde. Aromatische Aminosäuren wirkten im Vergleich zu den aliphatischen verhältnismäßig schlecht. Ueber die Erfahrungen an Ammoniumsalzen ist oben schon berichtet worden. Mit gutem Grunde hütet sich CZAPEK, seine Befunde von der ganz besonderen Eignung der Aminosäuren auch auf andere Pilze zu 20 übertragen, und glaubt nur, daß *Aspergillus niger* ein besonders günstiges Objekt sei, bei welchem die Wirkung dieser Säuren bei der Eiweißsynthese „ganz allgemein und ohne Störung hervortritt".

Zu Ergebnissen, die sich mit denen CZAPEK's nur teilweise decken, führten die Untersuchungen O. EMMERLING's (2). Dieser stellte zunächst 25 fest, daß meist die α-Aminosäuren für *Aspergillus niger* brauchbar sind; eine Ausnahme macht nur die Buttersäure, indem hier die γ-Säure die taugliche ist. Hiermit ist die von CZAPEK geäußerte Meinung unvereinbar, daß die Gruppe $NH_2—CH_2$ diejenige ist, welche die Eignung der Aminosäuren bedingt, da sie ja den α-Aminosäuren, das Glycocoll aus- 30 genommen, fehlt. Ferner soll nach EMMERLING das Tyrosin untauglich sein; ein gegenteiliger Befund soll auf Verunreinigungen beruhen. Mit anderen Pilzen erhielt EMMERLING zum Teil etwas andere Ergebnisse.

Bei diesen Widersprüchen, die zwischen einzelnen Angaben CZAPEK's und anderer Forscher bestehen, drängt sich die Möglichkeit auf, 35 daß jener mit einem Stamme von *Aspergillus* gearbeitet hat, der sich in physiologischer Hinsicht von anderen unterscheidet. Immerhin wird sich Genaueres erst dann sagen lassen, wenn auch noch andere Forscher in der zweifellos hochwichtigen Frage nach der Eignung der Aminosäuren das Wort ergreifen, und wenn EMMERLING die genaueren Bedingungen 40 seiner Versuchsanstellung wird angegeben haben.

Wie dem auch sei, in allen Fällen wird man, wenn man eine Stickstoffquelle als besonders gut befindet, nicht ohne weiteres annehmen dürfen, daß sie als solche in den Bau des Eiweißmoleküls eingeht, sondern man wird stets auch die Möglichkeit einer mehr oder minder weitgehenden 45 Spaltung annehmen können, welche der eigentlichen Synthese vorausgeht, einer Spaltung, bei der z. B. Ammon als Stickstoffquelle und irgend ein anderes als Kohlenstoffquelle besonders taugliches Spaltungsprodukt auftreten. LOEW (2) nimmt das ganz allgemein für organische Stickstoffquellen an. Jedenfalls könnte es zu einer gefährlichen ernährungs- 50 physiologischen Metaphysik führen, wenn man ohne weiteres voraussetzen wollte, daß der Pilz die ihm gebotenen Nährstoffe einfach zum Eiweißmolekül zusammenleimt. Man wird auch stets beachten müssen, wie sehr der Wert einer Nährlösung im allgemeinen, und einer Stick-

stoffquelle im besonderen durch scheinbar nebensächliche Umstände verändert werden kann (vgl. NIKITINSKY [2]).

Schließen wir hier noch ein paar Bemerkungen über die Eignung von Huminkörpern an. REINITZER (1) erwies, daß diese für *Penicillium* als Stickstoffquelle brauchbar sind, falls gleichzeitig Zucker als Kohlen- 5 stoffquelle geboten wird. Ebenso verhält sich nach NIKITINSKY (1) der *Aspergillus niger* und *Mucor*; ersterer verwertet nur den Ammoniumstickstoff der Huminkörper, hingegen wahrscheinlich nicht den Amidstickstoff, soweit er nicht allmählich in Ammoniumstickstoff übergeht, und ganz sicher nicht den amidsauren Stickstoff. 10

Ueber die Verwertbarkeit der Thymonucleinsäure veröffentlichte IWANOW (2) eine Arbeit. Er fand, daß diese Säure, als Natriumsalz geboten, für *Mucor*, *Aspergillus* und *Penicillium* als Stickstoff- und Phosphorquelle tauglich ist, daß jedoch außer ihr noch eine besondere Kohlenstoffquelle (Zucker) beigefügt werden muß. Mit jener Säure gefüttert, 15 wies *Penicillium glaucum* 4 Proz., *Aspergillus niger* 8 bis 9 Proz. Stickstoff in der Trockensubstanz auf. Von dem gesamten in der Säure gebotenen Stickstoff waren im Mycel 66 Proz. und in der Nährlösung 24 Proz. als Ammon, hingegen 10 Proz. als unbekanntes Zersetzungsprodukt nachzuweisen. 20

Gehen wir nun zu der sozusagen wichtigsten Stickstoffquelle, nämlich dem Eiweiß, über. Gewöhnlich wird unter dem Namen Pepton den Pilzen ein Gemenge verschiedener Albumosen geboten, die für die Mehrheit eine vortreffliche Ernährung gewährleisten, insbesondere dann, wenn ihnen noch Zucker oder eine andere gute Kohlenstoffquelle beigegeben 25 wird. Ueber Zersetzungen des Pepton und über die Spaltungsprodukte ist schon in den §§ 73 und 79 auf S. 310 und S. 360 das Wichtigste gesagt worden. Hier genüge, daran zu erinnern, daß bei alleiniger Darbietung von Pepton ohne andere Kohlenstoffquelle häufig durch Ammonansammlung der Ausnutzbarkeit ein nahes Ziel gesteckt wird, 30 zumal dann, wenn der Pilz nicht durch Bildung von Oxalsäure dieser Gefahr begegnen kann. NIKITINSKY (2) hat dies auch für wiederholte Zuchten auf ein und derselben Nährlösung festgestellt; bei *Penicillium glaucum* und einer als *P. griseum* bezeichneten Art war die Flüssigkeit nach einer Ernte noch neutral, nach zweien schon alkalisch. Bei *Asper-* 35 *gillus* war sie, dank der Oxalsäurebildung, noch nach zwei Ernten sauer und wurde erst nach der dritten alkalisch. So kann der letztgenannte Pilz Peptonlösungen viel weitergehend ausnutzen. NIKITINSKY (2) erzielte als Mittelwerte dreier aufeinanderfolgender Zuchten bei *Penicillium glaucum* 0,65 g, bei *P. griseum* 0,57 g und bei *Aspergillus niger* 1,219 g 40 Trockengewicht. Durch Zusatz von saurem Kaliumphosphat kann selbstverständlich eine weitergehende Ausnutzung erreicht werden.

Bei Hefen ist über Prototrophie oder über obligate Autotrophie des Stickstoffs nichts bekannt. Nähere Darlegungen über die wenigen Ausnahmsfälle von fakultativer Autotrophie und über die als Regel 45 herrschende Heterotrophie findet man im 4. Kapitel des IV. Bandes.

§ 87. Stickstoffquellen für Schizomyceten.

Bei den Bakterien treffen wir im allgemeinen die ausgeprägtesten Vertreter der am Eingang des vorigen Paragraphen genannten BEIJERINCKschen Gruppen, die sich auf Grund der Art der erforderlichen Stickstoff- 50

zufuhr unterscheiden lassen. Das kann um so weniger wunder nehmen, als dieser Einteilungsversuch wesentlich auf Bakterien Bezug nahm.

Wir haben zunächst die **Nitrogenbakterien** anzuführen, welche den freien Stickstoff binden. Sie gliedern sich in die beiden Gruppen der
5 im 1. Kapitel des III. Bandes zu betrachtenden freilebenden einerseits und der symbiotisch mit höheren Pflanzen lebenden Knöllchenbakterien der Leguminosen, Erlen und Elaeagnusarten andrerseits, denen das 2. Kapitel desselben Bandes gewidmet ist. Es handelt sich bei diesen Arten durchaus nicht um obligate Stickstoffbindung, sondern
10 es kann sowohl *Clostridium Pastorianum* als auch *Azotobacter* Ammonsalze gleichfalls verbrauchen. Andrerseits vertragen sie „bessere" Stickstoffverbindungen in einigermaßen höherer Konzentration nicht. *Azotobacter* wächst nach GERLACH und VOGEL (1) nicht, wenn Eiweiß, Pepton oder Nitrate in größeren Mengen vorhanden sind. Es muß noch auf die
15 Eigentümlichkeit dieser stickstoffprototrophen Bakterien hingewiesen werden, daß sie in künstlicher Zucht nach einiger Zeit zu entarten pflegen und dann die Fähigkeit zur Stickstoffbindung verlieren, d. h. auf metatrophe Stickstoffaufnahme angewiesen sind. Der Grund dieser Veränderung ist nicht bekannt, und man weiß ferner auch nicht,
20 warum *Azotobacter* bei anfänglicher Zugabe einer geringen Menge von gebundenem Stickstoff sein Wachstum und die Stickstoffbindung beträchtlich beschleunigt. Diese Erscheinung erinnert uns daran, daß es nach BEIJERINCK (12) eine große Anzahl von Bakterien (z. B. die *Streptothrix chromogena*) und anderen Pflanzen geben soll, die nach anfänglicher Zu-
25 gabe von Spuren von Stickstoffverbindungen dann der Fixierung des freien Stickstoffes obliegen: „oligonitrophile" Mikroben (s. Bd. III, S. 7). Dieser Ausdruck ist wohl besser zu vermeiden, da er mißverständlich ist. BEIJERINCK konnte in keinem Falle nachweisen, daß seine „Oligonitrophilen" wirklich Stickstoff binden, sondern nur zeigen, daß in Böden,
30 die arm an gebundenem Stickstoff sind, eine mehr oder minder gut charakterisierte Flora aufzutreten pflegt, unter welcher auch einzelne Stickstoffbinder (nachweislich bisher nur die oben genannten Bakterien) vorkommen. Man darf also höchstens von Oligonitrophilie in einem anderen Sinne sprechen und unter oligonitrophilen dann solche Pilze
35 verstehen. die zwar nicht fähig sind Stickstoff zu binden, aber doch so gut an stickstoffarme Nährböden angepaßt sind, daß in diesen viele andere Pilze den Wettbewerb mit ihnen nicht bestehen können. Oligonitrophil in diesem Sinne sind z. B. nach WEHMER (5) die in der „chinesischen Hefe" vorkommenden Mucorarten, ferner auch zweifellos der
40 größte Teil der BEIJERINCK'schen Oligonitrophilen.

Wir gehen nun zur Besprechung der **Stickstoffautotrophie** bei Bakterien über und haben hier zunächst an WINOGRADSKY's Nitrifikationsmikroben den ersten Fall **obligater Stickstoffautotrophie**, nämlich obligate Aufnahme von Ammon bei den Nitritbildnern und obligate
45 Nitritaufnahme bei den Nitratbildnern zu erinnern. Eine genaue Darstellung der Eigenschaften und Leistungen dieser Mikroben ist dem 5. Kapitel des III. Bandes vorliegenden Handbuches vorbehalten. Obligat stickstoffautotroph sind voraussichtlich auch NATHANSON's (1) und BEIJERINCK's (12) Schwefelbakterien, ferner die Beggiatoen, Thiothrix-Arten und andere
50 von WINOGRADSKY studierte Schwefelbakterien, dann die Eisenbakterien und vielleicht auch die Purpurbakterien (s. 7. u. 8. Kap. d. III. Bds.).

Treten wir jetzt an die Frage nach der **fakultativen Autotrophie des Stickstoffes** heran, also an die Erörterung darüber, inwieweit Bak-

terien von Ammonsalzen oder von Nitraten (bzw. Nitriten) sich ernähren können. Ebensowenig wie bei den höheren Pilzen ist sie auch bei jenen Organismen von der gleichzeitigen Behandlung der Heterotrophie scharf zu trennen und zwar eben aus dem gleichen Grunde, weil der Bedarf an Stickstoffnahrung nicht als spezifisch konstante Größe gelten kann, 5 sondern insbesondere von der Art der Kohlenstoffquelle abhängig ist. Es wird nützlich sein, zunächst diese letztere Tatsache an einigen Beispielen zu erläutern. BEIJERINCK (8) macht in betreff einiger für die Essigfabrikation wichtiger Bakterien folgende Angaben: Bei Zufuhr von Essigsäure als Kohlenstoffquelle kann *Bact. aceti* Ammon verarbeiten, 10 verschmäht übrigens auch Pepton nicht. *Bact. rancens* und *Bact. xylinum* hingegen können nur bei Zuckerzufuhr mit Ammon oder auch mit Nitrat vorliebnehmen, während in dem Falle, daß Essigsäure als Kohlenstoffquelle geboten wird, *Bact. rancens* ein Pepton- (nicht Amid-)Organismus ist, und *Bact. xylinum* entweder Pepton oder doch Amide verlangt. *Bact.* 15 *Pasteurianum* bedarf stets organisch gebundenen Stickstoff. Zu ähnlichen Feststellungen ist auch HOYER (1) gelangt. HENNEBERG (1) berichtete über Züchtungsversuche mit *Bact. oxydans* und *Bact. acetosum*, aus deren Ergebnissen hervorgeht, daß diese beiden Arten Kalisalpeter, Asparagin, Ammoniumsulfat, Ammoniumtartrat oder Pepton als Stick- 20 stoffquelle benutzen können, jedoch nur dann, wenn eine zulängliche Kohlenstoffquelle, wie Dextrose, nicht aber Weinsäure oder niedere Alkohole, vorhanden sind. PÉRÉ (1) beschreibt ein *Bact. coli*, das sich im allgemeinen von Pepton und nicht von Amiden ernährt, das aber auch mit Ammon zufrieden ist, wenn als Kohlenstoffquelle eine orga- 25 nische Säure geboten wird. CHUDJAKOW (1) fand, daß einige der oft anspruchsvollen Anaeroben, die er untersuchte, mit Ammon als Stickstoffquelle gedeihen können, jedoch nur dann, wenn sie eine gute Kohlenstoffquelle zur Verfügung haben. Dies waren also ein paar Beispiele dafür, daß den Bezeichnungen Amid-, Pepton-, Ammon-, Nitrat- 30 bakterien keine unbedingte und unbeschränkte Gültigkeit zukommt. Dennoch kann man bei kritischem Vorgehen viele Bakterien in die eine oder andere dieser Gruppen einreihen, wenn man nur nie vergißt, daß mit fortschreitender Erkenntnis der Ernährungsbedingungen zweifellos viele Aenderungen an der heute noch geltenden Einteilung sich als nötig 35 erweisen werden.

Von Bakterien, welche imstande sind, **Nitrate** zu verwerten, kommen zunächst gewisse denitrifizierende Arten in Betracht. ALFR. FISCHER (2) nennt ausdrücklich *Bac. pyocyaneus* und *B. fluorescens* als Spaltpilze, die bei Anwesenheit von Glycerin mit Nitrat als Stickstoffquelle vorlieb 40 nehmen und die Flüssigkeit dabei vergären. Nach FICHTENHOLZ (1) nährt sich auch *Bac. subtilis* von Nitrat und verwandelt es zu Ammon (s. aber weiter unten). BEIJERINCK (9) zufolge gedeiht *Streptothrix chromogena* mit Nitrat (wie auch mit Nitrit, Ammon, Asparagin oder Pepton). *Bac. radicicola* ist nach demselben Forscher (1) ein Zucker-Nitrat- 45 Bazillus, nimmt aber auch mit Zucker und Ammon (oder Asparagin) vorlieb. Ueber die Beziehungen der Knöllchenbakterien zum Salpeter macht der § 10 des 2. Kapitels des III. Bandes nähere Angaben. Ueber Schädigung von Bakterien (*Bac. prodigiosus*) durch dieses Salz berichten LOEW und KOZAI (1). Aus Ackerböden und Stalldünger haben GERLACH 50 und VOGEL (1) sieben Arten von lebhaft beweglichen Kurzstäbchen abgeschieden, welche bei Zufuhr von Stickstoff in der Form von Natriumnitrat (wie auch von Ammon oder von Harnstoff) sehr gut wuchsen und

den Salpeterstickstoff quantitativ in unlöslichen „Eiweißstickstoff" überzuführen vermochten. Als Zwischenstufe trat salpetrige Säure auf; Ammoniakbildung war nicht nachzuweisen. Die Reduktion des Salpeters trat bei Zugabe von etwa 0,4 Proz. am kräftigsten auf; 1 Proz. wirkte 5 schon verzögernd, und 2 Proz. waren das Maximum. Weitere Angaben findet man im 6. Kapitel des III. Bandes. Die Thiobakterien NATHANSOHN's (1) und BEIJERINCK's (13), ferner die durch den letztgenannten Forscher beschriebenen und im folgenden Paragraphen noch anzuführenden „oligocarbophilen" Spaltpilze gedeihen ebenfalls gut mit Nitraten, 10 aber auch mit Ammon oder mit Nitriten. Besonders eingehende Angaben über die Verwertung von Salpeter durch verschiedene aerobe Bodenbakterien verdankt man GOTTHEIL (1). In einer mit Rohrzucker und Glycerin beschickten Nährsalz-Lösung, welche als Stickstoffquelle Kaliumnitrat führte, entwickelten sich *Bac. ruminatus*, *B. tumescens* und *B. carotarum* 15 gut, *Bac. subtilis* und *Bac. Petasites* nur leidlich, *Bac. graveolens* u. a. gar nicht. Die erstgenannten gediehen sogar bei Zufuhr von Asparagin kaum besser als bei Fütterung mit Nitrat, während andere Bodenbakterien, die mit Nitrat überhaupt nicht aufkommen konnten, wiederum gut mit Asparagin (und Dextrose als Kohlenstoffquelle) wuchsen.

20 Mit **Ammonsalzen** als Stickstoffquelle gedeihen sehr viele Bakterien gut. Wir können hier aus der überreichen Anzahl von Angaben nur einige wenige herausheben. Die oben erwähnten „eiweißbildenden" Bakterien von GERLACH und VOGEL konnten Ammonsalze verwerten und in Körpersubstanz überführen. Nach SCHREIBER (1) entwickelt sich *Bac.* 25 *subtilis*, nicht aber auch *B. tumescens* oder *B. anthracis*, mit Ammoniumtartrat (oder Asparagin). Nach A. FISCHER verwerten das genannte Ammonsalz auch *Bac. coli*, *B. cholerae*, *B. typhi murium*, nicht aber *B. typhi abdominalis* noch auch *B. anthracis*, wenn Glycerin als Kohlenstoffquelle geboten wird. GOTTHEIL macht folgende Angaben: *B. Petasites*, 30 *B. subtilis*, *B. asterosporus*, von denen der letztere auf Nitraten nicht wächst, gedeihen gut bei Zufuhr von Ammoniumtartrat, wenn Glycerin und Rohrzucker beigefügt werden.

Organische Stickstoffverbindungen sind in den obigen Ausführungen schon mehrfach genannt worden; wir teilen über sie noch folgendes 35 mit. Harnstoff ist, wie schon COHN (1) für „*Bact. Termo*" fand, als Nahrung nur dann tauglich, wenn noch eine andere Kohlenstoffquelle geboten wird. Dasselbe gilt nach A. FISCHER (1) z. B. für *Bac. subtilis*, der bei Zufuhr von Zucker und Harnstoff gut gedeiht. Auch andere Amide sind beliebt. Zucker und Leucin, d. h. die von NÄGELI für 40 Schimmelpilze empfohlene Kombination, fand A. FISCHER auch für Bakterien sehr geeignet. Sehr häufig wird Asparagin mit oder ohne Zucker, je nachdem Amidkohlenstoffbakterien oder Amidbakterien vorliegen, gereicht. Auch FRÄNKEL (1) verwendete in seinen Versuchen über Bakterienwachstum in eiweißfreien Nährböden diese Stickstoffquelle. Ferner sind 45 Aminosulfonsäuren nach LOEW (6) für viele Bakterien tauglich. In den meisten Fällen dürfte zutreffen, daß „Amidbakterien" bei Zufuhr von Pepton anstatt von Amiden ebenso gut oder noch besser gedeihen. Als Ausnahme wird BEIJERINCK's (6) *Bac. perlibratus* genannt, der Amide bevorzugt.

50 Als Peptonbazillus wird von BEIJERINCK (4) der *Bac. cyaneo-fuscus* bezeichnet. Auch viele Parasiten gehören hierher. Nach CHUDJAKOW (1) entwickelt sich *Bac. tetani* mit Pepton als alleiniger Kohlenstoff- und Stickstoffquelle; andere Anaerobe hingegen brauchen noch eine besondere

Kohlenstoffquelle, sind aber dafür in betreff der Stickstoffzufuhr weniger anspruchsvoll. Beispiele für Peptonbakterien sowie für Kohlenstoff-Pepton-Bakterien finden sich unter den photogenen (s. d. 25. Kap.). Nach BEIJERINCK (3) kommen *Bact. indicum* und *B. luminosum* bei alleiniger Zufuhr von Pepton als Stickstoff- und Kohlenstoffquelle aus, während *B. Pflügeri*, *B. phophorescens* und *B. Fischeri* außerdem noch Zucker benötigen.

Mit ganz besonderer Vorliebe werden auch nicht näher gekennzeichnete Spaltungsprodukte von Eiweißkörpern als Stickstoffquelle verwendet, so in allen Fleischwässern, in Bierwürze, in den Gelatine-Nährböden usw., allenfalls noch zusammen mit anderen Stickstoffverbindungen. DEYCKE und VOGTLÄNDER (1) verwenden ein „Alkalialbuminat", das durch Einwirkung von Pepsin auf Fleisch bereitet wird, LEPIERRE (1) hingegen ein Produkt, welches aus Albuminoiden durch Behandeln mit Baryt hergestellt wird. BEIJERINCK (11) gibt an, daß dem *Urobacillus Pasteurii* als Stickstoffquelle nur Fleischbouillon, Urin und Pepton-CHAPOTEAU, nicht aber auch Pepton-WITTE oder Asparagin genehm ist. An solche Nährböden würden sich dann die eigentlichen Eiweißnährböden (Serum usw.) anschließen, die aber wesentlich nur für die pathologische Mykologie von Wichtigkeit sind.

Es sei noch auf die Eignung der Hefennucleinsäure als Stickstoffquelle für *Bac. coli*, *Staphylococcus pyogenes* u. a. hingewiesen. Auch sei daran erinnert, daß nach NIKITINSKY (1) von einer großen Anzahl von Bodenbakterien die Huminkörper als Stickstoffnahrung verwendet werden. Auch Nicotin ist für manche Bakterien eine gute Stickstoffquelle (s. Bd. V, S. 7). Die Frage, inwieweit Chitin durch Pilze verarbeitet wird, ist offenbar noch ganz ungenügend untersucht. Mir ist nur die Angabe GASPERINI's (1) bekannt, daß „*Streptothrix Foersteri*" die „stickstoffhaltigen Wände von Bakterien und Pilzen angreift".

Daß bei wechselnder oder mangelhafter Stickstoffzufuhr auch Gestaltänderungen oder Ausfallserscheinungen zur Beobachtung gelangen, ist oben schon im vorhergehenden Paragraphen betont worden. In betreff der Bakterien wären in dieser Hinsicht noch folgende Angaben zu machen. Nach A. FISCHER (1) bewirkt Stickstoffmangel Geißelstarre; diese kann dann durch Asparaginzusatz wieder aufgehoben werden. Bei ungenügender Stickstoffzufuhr kann *Bac. prodigiosus* noch wachsen, aber die Farbstoffbildung läßt nach; ähnlich verhält sich *Micrococcus ochroleucus*. Nach BEIJERINCK (4) wächst *Bac. cyanogenus* als Peptonbazillus, bedarf aber zur Farbstoffbildung noch einer besonderen Kohlenstoffquelle.

§ 88. Kohlenstoffquellen.

In den vorausgegangenen zwei Paragraphen ist die Frage nach den Kohlenstoffquellen der Pilze bereits zum großen Teil erledigt worden; denn sehr oft werden Stickstoff und Kohlenstoff gemeinsam im selben Körper geboten. Im vorliegenden Paragraphen ist es nun unsere Aufgabe, uns den Kohlenstoffquellen im einzelnen zuzuwenden. Es wird dabei zunächst in aller Kürze die Frage nach dem Zusammenhange zwischen Nährwert und chemischer Konstitution behandelt werden. Im Anschlusse daran soll die Aufmerksamkeit darauf gerichtet werden, daß es einen Nährwert einer Kohlenstoffquelle schlechthin nicht gibt, weil spezifische Unterschiede und der Einfluß anderer, gleichzeitig einwirkender

Ernährungsverhältnisse hier von ebenso ausschlaggebender Bedeutung sind, als das oben schon in betreff aller anderen Nahrungsstoffe dargelegt worden ist. Schließlich sollen eine Anzahl besonders wichtiger Gruppen von Kohlenstoffverbindungen in ihrer Wirkung auf die verschiedenen 5 Pilze betrachtet werden.

Auf den Zusammenhang zwischen Nährwert und Konstitution ist zuerst durch Pasteur (1) hingewiesen worden, als er feststellte, daß Zucker und Weinsäure gewissen Pilzen als Kohlenstoffquelle dienen können. Nachdem dann Zöller (1) auch die Eignung der Essigsäure 10 für gewisse Arten erwiesen und Cohn (1) die Weinsäure auch ohne Zucker als geeignete Nahrung für Bakterien erkannt hatte, stellte Stutzer (1) im Jahre 1878 eingehende Studien über diese Frage an. Er fand, daß die Carboxylgruppe nicht nährt, meinte, daß die Kohlenwasserstoff-Gruppen an Hydroxyl gebunden sein müßten, um brauchbar 15 zu sein, und machte ferner über den Nährwert verschiedener Säuren, Alkohole und Kohlenhydrate einige Angaben, die aber heute nur noch historisches Interesse haben.

Bekannt sind die einschlägigen Untersuchungen Nägeli's (1) aus dem Jahre 1882. Dieser Forscher ging von der Hypothese aus, „daß 20 Verbindungen am leichtesten assimiliert werden, welche bereits Atomgruppen enthalten, wie die zu bildende Substanz sie besitzt, andernfalls um so unvollkommener, je weiter sie von diesem Ideal sich entfernen". Er fand, daß als Kohlenstoffquelle die Ameisensäure, die Oxalsäure, der Harnstoff und das Oxamid untauglich sind, und glaubte darum, daß der 25 Kohlenstoff nur dann assimilierbar sei, wenn er direkt an Wasserstoff gebunden sei, z. B. als $C{=}H_2$, während die Gruppe C—H nur dann assimilierbar sein soll, wenn mit ihr noch mindestens ein mit Wasserstoff verkettetes Atom Kohlenstoff, verbunden ist. Im allgemeinen werden nach Nägeli Substanzen mit einem Atom Kohlenstoff schwieriger, 30 mit mehreren Atomen Kohlenstoff hingegen leichter assimiliert. Gegen Stutzer macht Nägeli geltend, daß Methylamin nähren kann, daß somit der Kohlenwasserstoff nicht unbedingt an die Hydroxylgruppe gebunden zu sein braucht. Weiter betonte er, daß in jedem Falle zu entscheiden ist, ob ein Körper wegen der Atomstellung zur Ernährung 35 untauglich ist, oder ob er Giftwirkungen entfaltet und deshalb nicht nährt oder doch nur in sehr geringer Konzentration zugeführt werden darf. Im Anschluß an Nägeli wurden solche und ähnliche Fragen insbesondere durch Loew (4) eingehend in seinen Studien erörtert, in denen er u. a. ausführte, daß aus der als Kohlenstoffquelle gebotenen Substanz 40 durch den Pilz immer erst die Gruppe CHOH gebildet werden müsse, ehe die Assimilation einsetzen könne. Als Körper, die zwar ungiftig sind, aber doch (wegen ungeeigneter Atomstellung) nicht nähren, nennt Loew (4) das Pyridin, das Glyoxal, das Aethylendiamin, das Diacetamid.

Die Versuche Nägeli's wurden später von Reinke (1) fortgeführt, 45 welcher die Allgemeingültigkeit von Nägeli's Lehrsätzen widerlegte. Er arbeitete mit schwach saurer Nährlösung, welche Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle enthielt; Versuchsobjekte waren *Penicillium* und einige Bakteriengemische. Manche Angaben Reinke's sind schon im vorigen Paragraphen erwähnt worden. Wir heben hier noch hervor, 50 daß die Methylgruppe nicht nur als Methylamin, wie Nägeli gefunden hatte, Nährwert entfalten kann, sondern auch in Fällen anderer Bindungsweise zur Ernährung taugt. Ferner ist ganz besonders Reinke's Befund beachtenswert, daß auch Parabanate, obwohl sie den Kohlenstoff als

Carbonyl enthalten, ausgenutzt werden, womit die Meinung NÄGELI's, daß der Kohlenstoff an Wasserstoff hängen müsse, um der Assimilation dienen zu können, als unzutreffend erwiesen war. Diese Beobachtung verliert, wie REINKE hervorhebt, dadurch nicht an Bedeutung, daß die Parabanate, vielleicht schon in der Nährlösung, in Oxalurate übergehen, 5 da auch in diesen der Kohlenstoff lediglich als Carbonyl vorhanden ist.

An diese Arbeiten schlossen sich nun weitere an, über die z. T. schon im vorigen Paragraphen berichtet worden ist. Sie brachten die Feststellung, daß für gewisse Pilze auch Kohlensäure, Oxalsäure oder Ameisensäure als Nahrung dienen können. Hieraus ergibt sich, daß die Spekulationen 10 NÄGELI's und anderer Forscher im besten Falle für bestimmte Gruppen von Pilzen, z. B. die gewöhnlichen Fäulnisbakterien und die Schimmelpilze, zutreffen mögen, aber keine Gültigkeit für das ganze große Reich der Pilze beanspruchen können, da eben die spezifischen Unterschiede zu groß sind. PFEFFER (2) hebt hervor, daß es wohl keinen Körper 15 gebe, der für alle Pilze eine gute Kohlenstoffnahrung abgebe.

Im Anschluß an diese Arbeiten, die vom Zusammenhange zwischen Nährwert und Konstitution handeln, ist nun noch der bekannten, im § 74 und auch anderwärts schon erwähnten Tatsache zu gedenken, daß nicht bloß Angehörige der aliphatischen Reihe sondern auch aromatische 20 Körper gute Kohlenstoffquellen abgeben. Als Beispiel wird meistens der gute Nährwert der Chinasäure, den NÄGELI (1) in seinen Pilzstudien erkannt hat, herangezogen. Daß diese Säure auch für Spaltpilze wohl tauglich ist, fand SAMKOW (1), welcher *Bac. prodigiosus* mit ihr als Kohlenstoffquelle und mit Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle züchten konnte. 25 Mandelsäure war für diesen Spaltpilz untauglich; vermutlich wird die Chinasäure wegen der Anhäufung mehrerer Hydroxylgruppen bevorzugt.

Als Beispiel der **Verschiedenheit des Nährwertes isomerer Körper** dient gewöhnlich das von BUCHNER (1) entdeckte Verhalten der Fumarsäure einerseits und der Maleinsäure andererseits, von denen die Ammon- 30 salze der ersteren für Schimmelpilze eine Nahrungsquelle sind, die der letzteren nicht. WEHMER (1) befand freie Maleinsäure als giftig für Schimmelpilze; für gewisse Bakterien hingegen fand er Maleinate tauglich. MAASSEN's (1) Ergebnisse in seinen Untersuchungen über das Verhalten von Bakterien zu Säuren deckten sich mit denjenigen BUCHNER's. 35

Ueber den verschiedenen Nährwert racemischer Körper vergleiche man das folgende Kapitel, ebenso in betreff des Zusammenhanges von Konstitution und Vergärbarkeit (Angreifbarkeit durch Enzyme) der verschiedenen Zuckerarten usw., auf welchem Gebiete die Forschung nach dem Zusammenhang zwischen physiologischer Reaktion und chemischer 40 Konstitution die schönsten Erfolge erzielt hat.

Es ist nun noch weiter darzutun, daß die Größe des Nährwertes eines Stoffes selbst für ein und denselben Pilz sich mit den sonstigen Ernährungsbedingungen ändert. Vor allem kommt hierbei die Luftzufuhr in Betracht. Wir können hier zunächst auf unsere Ausführungen 45 über die anaerobe Atmung verweisen, in denen davon die Rede war, daß selbst vortreffliche Stoffe, z. B. die Chinasäure, versagen können, wenn die Luft keinen Zutritt hat. Wir erwähnen ferner die Studien CHUDJAKOW's, demzufolge der *Bac. subtilis* bei Luftzutritt durch Glycerin schlechter als durch Dextrose ernährt wird, während in reinem Sauer- 50 stoff der Nährwert beider Stoffe gleich groß ist, und in komprimiertem Sauerstoff schließlich ist durch Dextrosegaben, selbst bei besonders guter Stickstoffquelle (Pepton), keine Entwicklung zu erreichen, während

Glycerin mit Pepton noch bei 3 at Sauerstoffdruck das Wachstum erlaubt. Dextrose und Salpeter, ferner auch Pepton allein ohne weitere Kohlenstoffquelle wirken in reinem Sauerstoff besser als in Luft.

Besonders wichtig ist ferner die Temperatur. WENT (2) fand, daß 5 Citronensäure bei höheren Wärmegraden für *Monilia* eine gute Nahrung abgibt, nicht mehr bei 15°, bei welcher Temperatur aber Zucker noch gut nährt. THIELE (1) stellte fest, daß *Penicillium* bei 32° den sonst sehr tauglichen Zucker nicht verwertet, wohl aber Glycerin und auch Ameisensäure, deren Nährwert bei mittleren Temperaturen nicht an den 10 des Zuckers heranreicht. *Aspergillus* verhält sich gegen Ameisensäure ebenso. Das Temperaturminimum des Wachstums ist nach THIELE bei Ernährung mit Zucker oder Glycerin 6—8°, mit Ameisensäure aber 10—12°.

Daß auch die Art der gebotenen Stickstoffquelle von großem Einfluß auf die Verwendbarkeit der Kohlenstoffquelle ist, wurde oben schon 15 mehrmals betont; hier soll noch ein Beispiel folgen. Nach WENT (2) ist Saccharose für *Monilia* die beste Kohlenstoffquelle, falls Asparaginsäure den Stickstoff liefert; wenn aber letztere durch Alanin ersetzt wird, ist Glycerin besser.

Der Erfolg einer Kombination verschiedener Kohlenstoffquellen ist 20 der Beachtung wert. DUCLAUX (1) fand, daß Alkohol dem *Aspergillus* zumal dann sehr genehm ist, wenn er mit Zucker gemeinsam geboten wird. Hefen verbrauchen ihn zufolge IWANOWSKI (1), wenn Pepton gleichzeitig anwesend ist. Nach BEIJERINCK (1) zersetzen Harnstoffbakterien die Ureate nur dann, wenn diese gemeinsam mit Zucker ge-25 boten werden, wobei allerdings zu bedenken ist, daß eine Kohlenstoffaufnahme aus Harnstoff nicht stattfindet. Nach BOURQUELOT und GRAZIANI (1) wird Galactose durch kleine Mengen von Glucose für das auf tunesischen Trauben wachsende *Penicillium Duclauxii* aufnehmbar. Nach JENSEN (1) können bestimmte Denitrifikationsbakterien Zucker nur dann 30 verwerten, wenn er gleichzeitig mit organischen Säuren geboten wird. Nährsalze, Salpeter und Zucker zusammen erlauben kein Wachstum. Dieses tritt jedoch dann ein, wenn organische Säuren zugesetzt werden; vgl. dazu auch MAASSEN (2). Beachtenswert ist auch die Angabe von SCHMIDT (1), daß zwar Glycerin an sich für die von ihm studierten Schimmelpilze 35 eine schlechtere Nahrung als Oelsäure ist, trotzdem aber, falls es mit dieser zusammen geboten wird, doch in höherem Maße aufgenommen wird. Auch durch Zusatz von Weinsäure wird nach SCHMIDT der Nährwert des Glycerins beträchtlich gehoben. MAASSEN fand ferner, daß manche organische Säuren von Bakterien nur dann aufgenommen 40 werden, wenn außerdem Kohlenhydrate zugegen sind. Ein paar besonders lehrreiche Zahlenangaben lieferte WENT (2): *Monilia* gab bei Ernährung mit Glycerin ein Ernte-Trockengewicht von nur 25 mg, mit Raffinose nur 19 mg, hingegen mit beiden zusammen 150 mg, und Aehnliches zeigte sich bei Fütterung mit Oel allein, Isodulcit allein 45 oder einem von beiden zusammen mit Glycerin. Weitere Angaben, die in diesen Zusammenhang gehören, findet der Leser im § 79.

Noch sei kurz darauf hingewiesen, daß auch Vertreter derselben Gattung sich sehr verschieden verhalten können. So wächst *Aspergillus pseudoclavatus* zufolge PURIEWITSCH (2) auf Lactose, welche von anderen 50 Aspergilleen verschmäht wird. Auch biologisch verwandte Formen zeigen nicht immer dieselben Ansprüche an die Kohlenstoffquelle; man lese darüber die Erfahrungen SEIFERT's (1) an Essigsäurebakterien nach, oder die Studien von MICHAELIS (1) an thermophilen Bakterien. Manche von

diesen Spaltpilzen verwerteten nur Glucose und nicht auch Milchzucker, andere wieder keines dieser beiden Kohlenhydrate.

Schließlich ist daran zu denken, daß sich die einzelnen Entwicklungsstadien ein und desselben Pilzes gegenüber den verschiedenen Kohlenstoffquellen verschieden verhalten. Eines der bekanntesten Beispiele 5 dafür ist die Angabe von DUCLAUX (1), daß Keimlinge von Pilzen, z. B. von *Aspergillus*, durch Essigsäure, Milchsäure oder Glycerin schlechter ernährt werden als erwachsene Decken. Dieser Befund konnte durch PFEFFER (2) und seine Schüler oft bestätigt werden. Aehnlich verhalten sich auch Alkohol, Mannit, Lactose. 10

Bei der Beurteilung des Nährwertes eines Körpers wohl zu beachten sind auch die Angaben, die im § 81 gemacht worden sind. Vergleicht man zwei Kohlenstoffquellen, so kann man möglicherweise, je nachdem man den Versuch früher oder später abbricht, die eine oder die andere als die bessere ermitteln. Auch kann man zu verschiedenen Ergebnissen 15 gelangen, je nachdem man zwei Stoffe in gleichen Gewichtsmengen oder in der gleichen Anzahl von Molekülen geboten hat. In dieser Beziehung ist die folgende kleine Tabelle lehrreich, die wir NIKITINSKY (2) verdanken. Sie gibt an, wieviel Milligramm Trockensubstanz des *Aspergillus niger* nach 16 Tagen auf Nährlösungen geerntet wurden, welche 20 nebst Nährsalzen und Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle wechselnde Mengen von Glycerin oder von Glucose oder von Arabinose als Kohlenstoffquelle enthielten.

	1 Proz.	2,5 Proz.	5 Proz.	10 Proz.	20 Proz.	30 Proz.	40 Proz.	50 Proz.
d-Glucose	135	270	468	880	1275	1948	**2520**	2495
Glycerin	180	325	630	1192	**1670**	1150	700	88
Arabinose	112	—	420	—	—	—	—	—

25

Man ersieht daraus, daß zur Erzielung gleich großer Erntegewichte in den niedrigeren Konzentrationen (unterhalb 30 Proz.) das Glycerin der Glucose überlegen ist, daß aber in höheren Konzentrationen die 30 Glucose besser nährt. Vergleicht man aber isosmotische Werte, d. h. 2,5 Glycerin mit 5 Glucose usw., so ist, entsprechend dem früher Gesagten, stets die Glucose der bessere Nährstoff. Sehr bemerkenswert ist auch, daß das Optimum der Konzentration für beide Nährstoffe auf isosmotische Werte fällt. 35

Nach allen diesen Ausführungen ist es klar, daß von einer allgültigen **Nährwertskala** nicht die Rede sein kann. Trotzdem ist es erlaubt, eine solche aufzustellen, wenn man sich nur dessen bewußt bleibt, daß sie immer nur beschränkte Gültigkeit haben, für die meisten der öfter untersuchten Pilze gelten kann, nicht aber auch für solche von besonders 40 auffallender ernährungsphysiologischer Anpassung. Solch eine Reihe wurde von NÄGELI (1) für Schimmelpilze aufgestellt. Sie lautet, wenn Ammonnitrat als Stickstoffquelle dient, vom besten zum schlechtesten Nährstoffe vorschreitend: Zucker, Pepton, Chinasäure, Weinsäure, Citronensäure, Asparagin, Essigsäure, Milchsäure, Alkohol, Benzoesäure, Propylamin, 45 Methylamin, Phenol, Ameisensäure. Ueber die nach NÄGELI gültige Nährwertskala bei gleichzeitiger Berücksichtigung der Kohlenstoff- und der Stickstoffquelle vgl. S. 405. WINOGRADSKY und OMELIANSKI (1) geben für die große Schar der „banalen Fäulnisbakterien" die folgende Reihe an: Pepton, Glucose, Asparagin, Glycerin, Harnstoff, Essigsäure, 50 Buttersäure. Als Beispiel für Organismen mit anderem Verhalten führen wir die von LINOSSIER und ROUX (1) für den Soorpilz gegebene Reihe

an, die, vom besten zum schlechtesten Nährstoff fortschreitend, lautet: Weinsäure, Glycerin, Milchsäure, Alkohol, Kohlenhydrate mit kleinem Molekulargewicht (ausschließlich Milchzucker), Mannit, Pepton. Nach JENSEN sind für gewisse Denitrifikationsbakterien Citronensäure, Buttersäure, Milchsäure gute, hingegen Glycerin, Stärke und Glucose schlechte Nährstoffe; d. h. eine der „besten" Kohlenstoffquellen steht hier an tiefster Stelle.

Wir gehen nun zu einer genauen Besprechung erst der Autotrophie, dann der Heterotrophie des Kohlenstoffes über.

Die **Autotrophie des Kohlenstoffes** bei Bakterien, d. h. die Assimilation der Kohlensäure, ist zum ersten Male durch WINOGRADSKY festgestellt worden, und zwar an den durch ihn reingezüchteten Nitrifikationsbakterien, welche ihren Kohlenstoffbedarf aus der Kohlensäure decken und die zu deren Spaltung erforderliche Energie dadurch gewinnen, daß sie Ammoniak zu Nitriten, bzw. Nitrite zu Nitraten oxydieren (s. Bd. III, Kap. 5, § 42). Der Erste, welcher die Wahrscheinlichkeit betonte, daß auch noch andere Bakterien mit „mineralischer Atmung" Kohlensäure zu reduzieren vermöchten, ist wohl GODLEWSKI (1). Zu diesen würden wahrscheinlich die Eisenbakterien und die Schwefelbakterien (s. 7. u. 8. Kap. d. III. Bds.) zu rechnen sein, von denen allerdings bis jetzt erst feststeht, daß sie in bezug auf die Kohlenstoffquelle sehr anspruchslos sind. Wie dem auch sei, erst an Reinzuchten könnte diese Frage entschieden werden, und wie sie auch in der Zukunft beantwortet werden möge, eine Verschiebung des Problems in energetischer Hinsicht würde dadurch nicht eintreten, daß der Nachweis erbracht würde, daß nicht Kohlensäure sondern andere, nicht ganz so weitgehend oxydierte Kohlenstoffverbindungen das Ausgangsmaterial für die Synthese bilden. Autotrophie des Kohlenstoffs erwies neuerdings NATHANSOHN (1) für gewisse Schwefelbakterien des Meeres. Sie bedürfen außer Kohlensäure oder Karbonaten keine andere Kohlenstoffquelle. Zusatz von Karbonat empfiehlt sich auch dann, wenn Kohlensäure Zutritt hat. NATHANSOHN neigt der Ansicht zu, daß seine Bakterien obligate Kohlensäure- bzw. Karbonat-Zehrer seien, denn sie verwerten Traubenzucker, Saccharose, Seignettesalz, Ameisensäure und oxalsaure Alkalien nicht. Im Gegensatz zu den nitrifizierenden Bakterien scheinen sie aber den Zusatz solcher organischer Stoffe nicht als schädlich zu empfinden. Ueber einen durch HILTNER und STÖRMER (1) beschriebenen denitrifizierenden Bazillus mit (wahrscheinlicher) Kohlenstoff-Autotrophie siehe Bd. III, S. 188, Anm.

Zur **Heterotrophie des Kohlenstoffes** führt uns eine Arbeit von BEIJERINCK und VAN DELDEN (1) über sog. oligocarbophile Bakterien. Schon vor längerer Zeit hatte ELFVING (1) darauf hingewiesen, daß in Nährlösungen ohne absichtlich zugefügte kohlenstoffhaltige Nahrung sich auf Kosten von organischen flüchtigen Verbindungen der Luft Mycelien entwickeln können. Dies gilt nun nach BEIJERINCK ganz besonders für den durch ihn entdeckten *Bac. oligocarbophilus*, welcher in mineralischen Nährlösungen ohne künstliche Kohlenstoffzufuhr sich zu einer die Oberfläche bedeckenden Kahmhaut schnell entwickelt. Als Stickstoffquelle dienen ihm Ammoniak, Nitrite oder Nitrate; aber auch ohne den Zusatz solcher zeigt sich nicht unerhebliches Wachstum, jedenfalls ist es wichtiger, den Nährlösungen Phosphate, wie auch Kaliumsalze und Magnesiumsalze zuzufügen als jene. Weil dieser Bazillus in reiner Luft nicht gut gedeiht, z. B. im Glashaus schlechter als im Laboratorium, handelt es sich wahrscheinlich um Aufnahme irgend eines

flüchtigen, in verunreinigter Luft vorhandenen, organischen, wohl stickstoffhaltigen Körpers, der unter normalen Verhältnissen leicht Kohlensäure abspalten, aber auch als Bakteriennahrung dienen kann. Auch eine an *Streptothrix* erinnernde Bakterienart ist nach BEIJERINCK oligocarbophil. In gewissem Sinne kann auch *Microspira desulfuricans* hier- 5 her gerechnet werden. Da BEIJERINCK selbst angibt, daß sein *Bac. oligocarbophilus* nicht nitrifizieren kann, ist es nicht recht verständlich, mit welchem Rechte er glaubt, daß WINOGRADSKY bei seinen Versuchen über Nitrifikation den *Bac. oligocarbophilus* unter Händen gehabt habe. Es ist dies um so weniger einzusehen, als die von WINOGRADSKY be- 10 schriebene Wuchsform seiner Mikroben eine durchaus andere ist als die des *Bac. oligocarbophilus*. Darin aber dürfte BEIJERINCK Recht haben, daß HERAEUS (1) in seinen Versuchen (s. Bd. III, S. 139) wohl ein Gemisch solcher oder ähnlicher Bakterien mit nitrifizierenden Bakterien vor sich hatte. Der letztgenannte Forscher fand, daß eine rein minera- 15 lische Nährlösung (Wasser: 200, K_2HPO_4 und $CaCl_2$ je 0,05, $MgSO_4$: 0,01, $(NH_4)_2CO_3$: 1), mit einem unansehnlichen, eben sichtbaren Pünktchen einer Zooglöa seiner Bakterien beimpft, sich in 10 Tagen zu einer die ganze Oberfläche bedeckenden Kahmhaut entwickelte. So wurde zum ersten Male die Möglichkeit der Züchtung einer reichen Bakterienflora 20 ohne absichtlich zugesetzte Kohlenstoffquelle organischer Natur bewiesen.

Die Besprechung der eigentlichen Heterotrophie des Kohlenstoffes beginnen wir bei den stickstofffreien organischen Säuren. Seit den durch PASTEUR und COHN gemachten Beobachtungen werden organische Säuren oft als Kohlenstoffquelle benutzt; die Bevorzugung der Weinsäure zu 25 diesem Zwecke erklärt sich wohl wesentlich aus historischen Gründen. Es hängt lediglich von der Art des zu züchtenden Pilzes ab, ob man die Säuren frei oder in Form ihrer Salze verwendet; in letzterem Falle wird die zu starke Konzentration an Wasserstoff-Ionen vermieden. Bei Schimmelpilzen empfiehlt es sich jedoch meistens, die freie Säure zu 30 wählen, weil sonst allzu schnell schädliche Alkalescenz eintritt, falls der Pilz ihr nicht durch Säurebildung entgegenarbeiten kann. Ein von NIKITINSKY (2) als *Penicillium griseum* bezeichneter Pinselschimmel wächst überhaupt nicht auf Salzen organischer Säuren, weil er keine Säuren zu bilden vermag. 35

Was den **Nährwert der organischen Säuren** für **Schimmelpilze** betrifft, so zeigen sich die mannigfaltigsten Unterschiede. Ein paar Beispiele werden dies dartun. Nach BRUHNE (1) wird *Hormodendron Hordei* durch Bernsteinsäure, Essigsäure, Ameisensäure oder Milchsäure gut ernährt, nicht aber auch durch Weinsäure, Citronensäure, Oxalsäure 40 oder Harnsäure. *Monilia* ist nach WENT (2) mit essigsauren, milchsauren, äpfelsauren oder weinsauren Salzen leidlich zufrieden, verschmäht aber buttersaure, bernsteinsaure und citronensaure Salze. Es zeigt sich also, daß Säuren, die sonst eine gute Nahrung abgeben, z. B. die Citronensäure, für die beiden genannten Pilze minderwertig sind. Die Oxalate 45 sind wohl immer von geringer Brauchbarkeit, sie bedürfen jedoch daraufhin noch einer genaueren Prüfung mit Hilfe elektiver Methoden. Nach WEHMER (1) gelingt es, auf ungefähr 3-proz. Oxalatlösungen, welche die sonstigen nötigen Nährstoffe (Salmiak als Stickstoffquelle) enthalten, eine kleine fruktifizierende Decke von *Penicillium* zu erzielen, etwa ebenso- 50 viel wie bei Darbietung von Harnstoff als Kohlenstoffquelle. Auch freie Oxalsäure, aber in höchstens 1-proz. Lösung, ist tauglich. Aehnlich verhält sich *Aspergillus niger*; junge Decken dieses Pilzes verbrennen

Oxalsäure, aber die Konidienbildung ist an die Zufuhr einer besseren Kohlenstoffquelle, z. B. Zucker, gebunden. DIAKONOW (1) behauptet, auf Lösungen von ameisensauren Salzen gut ausgewachsene, fruktifizierende Decken seiner Versuchspilze gezüchtet zu haben, wenn er der eintretenden
5 Alkalescenz durch Säurebeigaben entgegenwirkte. WEHMER (1) hingegen konnte mit Formiaten gleich gute Ergebnisse bei *Penicillium* und *Aspergillus niger* nicht erzielen. Auf einschlägige Angaben in den §§ 79 und 81 sei zurückverwiesen.

Die Beziehungen der **organischen Säuren** zu den **Hefen** sind, ganz
10 abgesehen von ihrem wissenschaftlichen Interesse, auch von großer praktischer Bedeutung für die Gärungsindustrie und werden deshalb an anderen Stellen dieses Handbuches, so zunächst im 4. und 6. Kapitel des IV. Bandes, eingehend gewürdigt werden. Darum möge hier die Anführung der Ergebnisse einiger Versuche verschiedener Forscher ge-
15 nügen, in denen entweder die Säuren als alleinige Kohlenstoffquelle dienten oder aber der Einfluß eines Säurezusatzes bei sonstiger Ernährung studiert wurde. Nach BEIJERINCK (5) ist für die Kahmhefen, welche bessere Kohlenstoffquellen verschmähen, Essigsäure und Bernsteinsäure eine besonders zusagende Nahrung. Nach ARTARI (1) sind für *Saccharo-*
20 *myces Zopfii* die Citronensäure und die Weinsäure eine besonders gute, die Milchsäure und die Aepfelsäure hingegen eine weniger gute Nahrung. SCHUKOW (1) untersuchte Hefen, denen die Citronensäure, die Aepfelsäure und die Weinsäure genehm waren; doch hing das Ausmaß der Verarbeitung wesentlich von der Stickstoff- und Aschensalz-Zufuhr ab.
25 LAURENT (2) fand Essigsäure zuträglich, nicht aber Propionsäure, Buttersäure und Valeriansäure, und glaubt, dies hänge damit zusammen, daß die erstgenannte Säure am natürlichen Standort der Hefen vorkomme, die letzteren aber nicht. Auch MEISSNER (1) stellte einschlägige Untersuchungen an und konnte weitgehende spezifische Unterschiede bemerken;
30 Aepfelsäure ist in einem Falle z. B. sehr zuträglich und in einem anderen Falle wieder fast wertlos, Weinsäure hingegen ist bei den meisten Hefenrassen beliebt.

Ueber die **Beziehungen** der **Bakterien** zu **organischen Säuren** liegt eine große Anzahl von Mitteilungen vor. Oben wurde schon er-
35 wähnt, daß Beggiatoen, wenn sie nicht Kohlensäure assimilieren, was noch unbekannt ist, vielleicht mit geringen Mengen von Butyraten oder anderen, im allgemeinen als schlechte Nährstoffe geltenden Säuren gezüchtet werden können. Acetate sind für *Leptothrix ochracea* empfehlenswert. Aehnlich anspruchslos sind auch die von LOEW (3) und OMELIANSKI (1)
40 beschriebenen Ameisensäure-Zersetzer, über welche im Sechsten Abschnitt des V. Bandes nähere Angaben zu finden sind, und auch BEIJERINCK's (10) Harnstoffbakterien (s. Bd. III, S. 76, 77 u. 80), welche letztere mit Acetat und Oxalat gerne vorliebnehmen, allerdings aber Malat und Citrat bevorzugen. JENSEN's (1) Denitrifikationsbakterien, welche, wenn
45 sie Glucose verwerten sollen, Säurezusatz nötig haben, sind für Citronensäure, Milchsäure und Buttersäure am dankbarsten; Ameisensäure hingegen können sie nicht gebrauchen.

Sehr umfangreiche Untersuchungen über den Einfluß organischer Säuren auf eine beträchtliche Anzahl von Bakterienarten, die gleich-
50 zeitig mit Pepton und Nährsalzen gefüttert wurden, stellte MAASSEN (1) an. Es erwiesen sich im allgemeinen als günstig: Aepfelsäure, Citronensäure, Fumarsäure, Glycerinsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, Schleimsäure und Weinsäure. Andere Säuren wurden als weniger gut, und die

α-Oxyisobuttersäure und die Oxalsäure als entwicklungshemmend befunden. Bemerkenswert ist, daß ein Stamm von *Bac. cyanogenus*, welcher infolge längerer Züchtung auf künstlichen Nährböden die Fähigkeit, Farbstoffe zu bilden, eingebüßt hatte, Mandelsäure angriff, was andere Stämme derselben Art nicht vermochten. Bei MAASSEN finden sich auch 5 einige Spekulationen über Beziehungen zwischen Nährwert und Konstitution organischer Säuren. Solche hatte früher schon LOEW (2) angestellt. LOEW (1) beobachtete ferner die Ueberführung von Chinasäure in Protokatechusäure, einen Uebergang, der bei Luftmangel unterbleibt, weil dann der aromatische Ring gesprengt wird und Ameisen- 10 säure, Essigsäure und Propionsäure entstehen. EMMERLING und ABDERHALDEN (1) beschreiben den aeroben *Micrococcus chinicus*, der ebenfalls Chinasäure in Protokatechusäure umwandelt, und führen in ihrer Mitteilung auch weitere Literatur an, z. B. den Befund von FITZ (1), welcher den Abbau des citronensauren Natrons zu Essigsäure und 15 Bernsteinsäure durch faulende Fleischflüssigkeit beobachtet hat. Nach EMMERLING (1) führt *Bac. lactis aërogenes* Aepfelsäure in Buttersäure, Essigsäure und Kohlensäure über. Bei seinen Studien über Bildung von Oxalsäure durch Bakterien fand BANNING (1), daß unter 15 daraufhin geprüften Arten keine einzige die Ameisensäure, die 20 Propionsäure, die Buttersäure, die Baldriansäure, die Bernsteinsäure, die Aepfelsäure, die Weinsäure, die Citronensäure, das Glycocoll, das Sarcosin, das Leucin, den Harnstoff oder die Harnsäure in Oxalat zu verwandeln vermochte. Essigsäure, Isobuttersäure, Glycolsäure, Milchsäure, Malonsäure und Brenzweinsäure wurden von einigen der untersuchten 25 Arten in Oxalat übergeführt; aus aromatischen Säuren wurde keine Oxalsäure gebildet. Es gediehen auf Ameisensäure (als Natriumsalz geboten) nur *Bact. Dortmundense* und *B. Monasteriense* gut, auf den andern Säuren ein mehr oder minder großer Prozentsatz; auf Milchsäure und Bernsteinsäure war eine gleichmäßig gute oder sehr gute Entwicklung 30 aller 15 Arten zu bemerken. Die Milchsäure ist übrigens schon durch FRÄNKEL (1) als guter Nährstoff für viele saprotrophe und paratrophe Bakterien erkannt worden. Die Zerstörung von Säuren durch Bakterien ist auch von großer technischer Bedeutung, so z. B. in der Säureabnahme im reifenden Wein, worüber der V. Band nähere Angaben bringen 35 wird. In betreff des Einflusses organischer Säuren auf die Farbstoffbildung bei fluorescierenden Bakterien gibt JORDAN (1) an, daß von den Gliedern der Reihe Asparaginsäure, Bernsteinsäure, Citronensäure, Weinsäure, Harnsäure, Essigsäure, Oxalsäure und Ameisensäure das erste am günstigsten, das letzte am schlechtesten wirkte. Ausführlichere An- 40 gaben über den Abbau organischer Säuren durch Pilze wird der Sechste Abschnitt des V. Bandes bringen.

Ueber den **Nährwert der Alkohole** für Schimmelpilze ist schon oben in diesem, wie auch im § 79 manches gesagt worden. Glycerin und Mannit sind zwei ganz besonders oft und meist mit 45 gutem Erfolge verwendete Kohlenstoffquellen; andererseits sind sie z. B. für *Monilia sitophila* nach WENT (2) und für *Hormodendron Hordei* nach BRUHNE (1) nur mäßig gute Nährstoffe. Bemerkenswert ist die Angabe von DUCLAUX (1), daß *Eurotiopsis Gayoni* gerne Aethylalkohol verbraucht, ein Pilz mit so eigenartiger Geschmacksrichtung, daß er 50 Zucker nicht besonders liebt. Nach COUPIN (2) assimiliert *Aspergillus Ziger* Aethylalkohol, Glycerin, Erythrit und Mannit; nicht aber auch Methylalkohol und Glycol. Während diese zwei Körper nicht giftig

wirken, sind Amyl- und Allylalkohol schwach und Propyl-, Butyl- und Benzylalkohol, wie auch Methyl-, Aethyl- und Benzaldehyd, sehr giftig. In betreff der Hefen sei auf das 4. Kapitel des IV. Bandes verwiesen. Von den Bakterien sind als Verzehrer von Alkoholen vor allem die 5 Erreger der Essigsäuregärung anzuführen, über welche der Sechste Abschnitt des V. Bandes nähere Angaben bringen wird. Von anderen Beispielen sei das *Bact. vernicosum* erwähnt, welches nach Zopf (2) wohl Mannit nicht aber auch Inosit, Erythrit, Glycerin oder Dulcit vergärt.

Gehen wir zu den **Kohlenhydraten** über, um zu den wichtigsten 10 Kohlenstoffquellen der Pilze zu gelangen. Das wesentliche vieler Gärungen ist ein Abbau solcher Körper, worüber in den einzelnen Bänden dieses Handbuches noch oft genug die Rede sein wird. Darum können wir uns hier auf einige wenige Angaben beschränken. So sind zufolge Went (2) für *Monilia sitophila* die Raffinose, die Maltose, 15 das Dextrin und die Cellulose vortreffliche Nahrungsstoffe, gegen welche die sonst so beliebte Dextrose wie auch die Lävulose und die Lactose, und noch mehr die Saccharose und das Inulin zurückstehen. *Monilia javanensis* verwertet nach Went und Prinsen-Geerligs (1) Lactose überhaupt nicht, wohl aber andere Kohlenhydrate. Dafür, daß nahe ver- 20 wandte Pilze sich ein und demselben Kohlenhydrate gegenüber sehr verschieden verhalten können, liefert auch die durch Herzberg (1) gemachte Beobachtung einen Beleg, derzufolge die Galactose zwar für jede der von ihm untersuchten fünf Spezies von *Ustilago* untauglich ist, Saccharose und Dextrose aber für *U. Hordei* und *U. Tritici* ganz gut und für 25 *U. Jenseni*, *U. perennans* und *U. Avenae* weniger gut sind, während Maltose gerade für die drei letztgenannten gut und für die zwei ersten minder gut ist. In betreff der Verarbeitung von Cellulose und von Pektinen sei auf das 9. und 10. Kapitel des III. Bandes verwiesen. Die Vergärung der Zuckerarten durch Hefen wird im Sechsten Abschnitt des 30 IV. Bandes behandelt werden.

Die Zersetzung der Fette wird im 12. und im 21. Kapitel des II. Bandes betrachtet werden. In betreff der Glycoside, welche, nebenbei bemerkt, auch deshalb von Bedeutung sind, weil sie für die Zwecke der Differenzialdiagnose zwischen *Bac. coli* und *Bac. typhi* durch 35 Inghilleri (1) herangezogen wurden, sei auf die eingehende Darstellung im 26. Kapitel dieses Bandes verwiesen.

§ 89. Der Kreislauf der Elemente.

Die chemischen Elemente, an welche auf Erden die Lebenstätigkeit sich knüpft, werden durch diese in dauernder Wanderung erhalten, von 40 einer Bindungsform in die andere übergeführt, auch in freier Form wieder entlassen, um dann abermals in Bindung zurückgezwungen zu werden. Auf diese Weise ist alles Leben mit einem steten Kreislauf der Nährelemente verknüpft, einem Kreislaufe, der in einem unaufhörlichen Uebergang von organischen und anorganischen Körpern ohne 45 freie Energie in komplizierte, mit freier Energie begabte und umgekehrt, besteht, d. h. in einem ewigen Aufbauen und Zerstören chemischer Verbindungen. Da nun das Leben eines jeden einzelnen Organismus an diesen Wechsel gekettet ist, beteiligen sich auch alle Organismen sowohl an den synthetischen wie an den analytischen Gliedern dieses Kreis- 50 laufes; jedoch in verschiedener Weise. Bekannt ist, daß bei den Chloro-

phyllpflanzen, welche mit Hilfe der Sonnenenergie die Kohlensäure unter Sauerstoffentbindung reduzieren und sich von vollkommen oxydierten Stoffen nähren, die aufbauende Tätigkeit die durch Dissimilationsvorgänge bewirkte abbauende weit übertrifft. Ohne Eingreifen anderer Organismen, Tiere und Pilze, würde sich somit durch die Chlorophyllwirkung die 5 Menge von Körpern mit hoher freier Energie und die Menge freien Sauerstoffes stetig vermehren. Weil aber bei den letztgenannten meistens der Abbau den Aufbau übertrifft, wird durch das unaufhörliche Ineinandergreifen der Tätigkeit chlorophyllfreier und chlorophyllhaltiger Wesen das dauernde Gleichgewicht der Stoffe auf der Erde gewährleistet. 10 Gerade für die uns hier wesentlich interessierenden Gärungspilze ist es bezeichnend, daß sie Zertrümmerungen von Stoffen in einer Menge bewirken, welche zu dem Gewichte der tätigen Zellen in einem oft erstaunlich großen Verhältnisse steht. Ist es somit den meisten Pilzen versagt, an dem Aufbau in wesentlicher Weise teilzunehmen, so ist 15 umgekehrt ihre Zerstörungsarbeit insofern besonders ausgeprägt, als die Grenzen ihrer Lebenstätigkeit weiter gesteckt sind als die der meisten anderer Wesen.

Wenn hier nun in aller Kürze der durch Pilztätigkeit bewirkte Kreislauf der Elemente betrachtet werden soll, so geschieht dies zu- 20 nächst zu dem Zwecke, um den in den letzten zwei Kapiteln vorgebrachten Stoff nochmals zusammenzufassen, dann aber auch in der Absicht, um an dieser Stelle auf die verschiedenen Kapitel unseres Handbuches zu verweisen, in welchen die verschiedenen Stufen des Kreislaufes, soweit sie durch technisch wichtige Pilze 25 bewirkt werden, eine eingehendere Behandlung erfahren. Es soll sich hier in erster Linie um den Kreislauf des Kohlenstoffes handeln. Von diesem ist aber der Kreislauf der anderen Elemente schlechterdings nicht scharf zu trennen. Besonders innig verkettet ist damit zunächst der des Sauerstoffes und des Wasserstoffes, da ja freier Kohlenstoff nicht 30 in die Lebenstätigkeit eintritt. Ueber den Kreislauf des Stickstoffes und des Schwefels finden sich eingehendere Darstellungen im ersten Paragraphen des 1. Kapitels, bzw. im 8. Kapitel des III. Bandes. Ueber den Kreislauf des Phosphors ist einiges schon im § 85 des vorliegenden Bandes gesagt worden; man vergleiche auch die Bemerkung auf S. 108 35 des III. Bandes. Ueber den Zustand des Kaliums, Magnesiums und Eisens im Organismus läßt sich nicht viel sagen, weil noch nicht feststeht, in welchem Umfange diese Elemente dort in organische Bindung übertreten. Soweit dies der Fall ist, gehen sie wohl meist mit dem Tode, ohne besondere Eingriffe, in die anorganische Form der Salze 40 bzw. Ionen wieder über.

Wenden wir uns nun den einzelnen Stufen des Kreislaufes zu und richten wir unser Augenmerk zunächst auf die Aufnahme des Kohlenstoffes aus Kohlensäure. Wesensgleich der Kohlensäureassimilation durch grüne Pflanzen ist im Reiche der Pilze, soweit bis jetzt bekannt, nur 45 die der Purpurbakterien, die unter dem Einflusse strahlender Energie und unter Sauerstoffentbindung verläuft, sie ist aber noch zu wenig erforscht. Ob diese Wesen in ihrem Stoffwechsel unabhängig von Chlorophyllpflanzen sind, wird sich erst sagen lassen, wenn ihre Ansprüche an die Ernährung besser, als es heute der Fall ist, bekannt sein werden. 50

Die Kohlensäure wird ferner, wie erwiesen ist, mit Hilfe chemischer Energie von den Nitrifikationsbakterien (s. 5. Kap. d. III. Bds.), und von gewissen oder vielleicht überhaupt von allen Schwefelbakterien

(s. 8. Kap. d. III. Bds.) und möglicherweise auch von bestimmten Nitritvergärern assimiliert. Unabhängig von Chlorophyllpflanzen sind diese Organismen gleichwohl nicht; denn ganz abgesehen davon, daß diese ihnen den für ihre Oxydationstätigkeit nötigen Sauerstoff liefern, stammen auch die anderen energieliefernden Körper, Ammon, Nitrit, Sulfid usw., aus der Zersetzung von Proteinen grüner Pflanzen oder anderer Wesen her, die von grünen Pflanzen unmittelbar oder mittelbar leben. Das gilt auch, falls Ammon, Nitrit oder Sulfid der bakteriellen Reduktion von Nitraten oder Sulfaten ihr Dasein verdanken, weil die diese Reduktionen ausführenden Bakterien auf die Zufuhr von Zucker oder anderen Produkten der Chlorophyllassimilation angewiesen sind. Die anderen Nährelemente, wie Stickstoff, Phosphor, Kalium, Magnesium usw. werden, soweit man überhaupt etwas davon weiß, von den eben besprochenen, die Kohlensäure assimilierenden Bakterien ebenfalls aus anorganischer Bindung aufgenommen. Da es noch nicht feststeht, ob die bezeichneten Bakterien mit „mineralischer Atmung" nebenbei auch organische Dissimilationsprozesse unterhalten, ist auch noch unentschieden, ob die von ihnen gebildeten organischen Stoffe zum Teil schon während des Lebens oder erst nach dem Absterben der Zellen unter dem zersetzenden Einfluß von Metabionten (s. d. 20. Kapitel) wieder in ihre Ausgangsprodukte zerfallen.

Von diesen autotrophen Bakterien führt nun eine ununterbrochene Stufenleiter heterotropher Pilze bis hinauf zu den anspruchsvollsten, welche nur bei Zufuhr von Proteinstoffen gedeihen (§ 88). Und bei diesen Heterotrophen handelt es sich also, wie erwähnt, nirgends um lediglich Aufnahme und Assimilation der verschiedenen organischen Verbindungen, vielmehr um innig damit verkettete Zertrümmerungen, durch welche einerseits Betriebsenergie gewonnen wird, andererseits Kampfstoffe oder Baustoffe geschaffen werden. Wie an die Zufuhr von Kohlenstoff, so stellen diese Heterotrophen auch an die von Stickstoff die allerverschiedensten Ansprüche; die einen assimilieren den freien Stickstoff (s. 1. u. 3. Kap. d. III. Bds.), andere begnügen sich mit anorganischen Stickstoffverbindungen, noch andere verlangen organische Stickstoffverbindungen verschiedenster Art (§ 87). Dabei ist zu beachten, daß Pilze, die rücksichtlich der Aufnahme eines Elementes (etwa des Stickstoffes) sehr anspruchslos sind, rücksichtlich derjenigen eines anderen (etwa des Kohlenstoffes) sehr anspruchsvoll sein können.

Was nun diese Stoffzertrümmerungen, an die sich die verschiedenen Lebensäußerungen der Pilze knüpfen, angeht, so ist bekannt, daß Enzyme dabei eine hervorragende Rolle spielen. Da wir in unseren obigen Ausführungen diese wichtigen Stoffe nur nebenher behandeln konnten, so sei die Gelegenheit ergriffen, um auf diejenigen Stellen des Handbuches zu verweisen, an denen sich der Leser über die einzelnen Enzyme genau unterrichten kann. Im I. Bande ist, nach einer einleitenden Bemerkung im § 6 auf S. 20 und 21, dann in den §§ 64 und 65 eine allgemeine Darlegung über diese Substanzen, deren Einteilung, Benennung, Wirkungsweise und Verbreitung im Pilzreiche auf den Seiten 255 bis 274 schon gegeben worden. Der § 80 hat darauf ergänzende Angaben betreffend die Abhängigkeit der Bildung dieser wichtigen Werkzeuge der Zellen von den Ernährungsbedingungen auf den Seiten 363 bis 366 gebracht. Im 25. Kapitel wird dann die Frage berührt werden, ob das Leuchten der Bakterien auf Enzymtätigkeit zurückzuführen sei. Das 26. Kapitel wird der Besprechung der glycosidspaltenden Enzyme und

deren Wirksamkeit bei technischen Gärungen gewidmet sein. Das 27. Kapitel schließlich beschäftigt sich mit den Oxydasen und also auch mit der besonders wichtigen, aber auch schwierigen Frage, ob gewisse Oxydationsvorgänge (Atmungsprozesse) durch derartige Enzyme bewirkt werden. Im II. Bande wird im 5. Kapitel über die Bildung von Enzymen 5 durch Milchsäurebakterien berichtet, im 9. Kapitel über die beim Abbau des Caseins wirksamen Enzyme und im 12. Kapitel über die Lipasen. Im III. Bande handelt der § 18 des 3. Kapitels von der in historischer Hinsicht besonders wichtigen Urease, und die §§ 30 und 31 des 4. Kapitels liefern eine Uebersicht über die proteolytischen Enzyme der 10 Bakterien; im 9. Kapitel kommt die Frage der celluloselösenden Enzyme zur Sprache. Im IV. Bande wird im 11. und 22. Kapitel dem Vorkommen von Enzymen bei Aspergilleen, bzw. Mucoreen nachgegangen werden, der Sechste Abschnitt ist der eingehenden Besprechung der verschiedenen Hefen-Enzyme und deren Wirkungen (17. Kap.: Alkoholase, 15 19. Kap.: Invertin, Maltose usw., 20. Kap.: Endotryptase usw.) vorbehalten. Im V. Bande belehrt uns das 1. Kapitel über den Stand der Frage nach der Enzymwirkung bei der Tabakfabrikation, das 13. Kapitel bringt Angaben über Stärkeverzuckerung durch Pilztätigkeit. —

Wenden wir uns nun den Zersetzungserscheinungen der verschie- 20 denen organischen Stoffe im einzelnen zu, und beginnen wir bei dem Abbau der Eiweißkörper. Ueber die Spaltung der Nucleinstoffe (S. 245 bis 252) ist das Wichtigste in den §§ 85, 86 und 87 mitgeteilt worden. Ueber die Frage, inwieweit über Eiweißzersetzung als Dissimilationsvorgang im engeren Sinne etwas bekannt ist, hat der § 73 Bemerkungen 25 gebracht. Von Proteinfäulnis im allgemeinen, von Fäulnisbakterien und Fäulnisprodukten handelt eingehend das 4. Kapitel des III. Bandes. Die Zerstörung von Fetten durch Pilztätigkeit wird im 12. und im 21. Kapitel des II. Bandes von verschiedenen Standpunkten aus betrachtet werden. Gehen wir zu den Kohlenhydraten über, so finden wir 30 im Zweiten Abschnitt des II. Bandes die Vergärungen des Milchzuckers zu Milchsäure, Buttersäure und Alkohol behandelt. Im IV. Bande wird im 4. Kapitel die Frage, welche Kohlenhydrate den Hefen als Nahrung dienen können, erörtert, im 18. Kapitel werden die unmittelbar vergärbaren Zuckerarten und im 19. Kapitel die Di- und Polysaccharide 35 besprochen. Ueber die Zersetzung der Baustoffe der pflanzlichen Zellwände, die ja zum Teile aus Kohlenhydraten bestehen, und der sogen. Mittellamellen-Substanz bringen das 9. und 10. Kapitel des III. Bandes eingehende Darlegungen.

Alle diese organischen Stoffe werden nun durch die Pilztätigkeit 40 entweder gleich nach der Aufnahme oder nach mannigfaltigen Umwandlungen in einfachere und einfachste Stoffe übergeführt, wie sie schließlich wieder den Chlorophyllpflanzen als Nahrung dienen, also Kohlensäure, Wasser, Ammoniak, welches der Nitrifikation verfallen kann, und anorganische Salze. Von anderen Endprodukten des Pilz- 45 stoffwechsels wären noch der freie Stickstoff zu nennen, der durch Stickstoffbinder wieder den Chlorophyllpflanzen zugänglich gemacht wird, ferner Wasserstoff und Methan, von welchen Gasen noch unbekannt ist, ob sie nur ohne oder auch unter Mitwirkung von Pilzen zu Wasser bzw. Kohlensäure oxydiert werden. Der Wasserstoff spielt vielleicht 50 auch bei der Reduktion des freien Stickstoffes eine Rolle. Somit ist der Kreislauf der Elemente geschlossen.

Für diesen Kreislauf ist es nun von entscheidender Bedeutung, daß

ein großer Teil der Endprodukte des Stoffwechsels gasförmiger Natur ist; es wird so verhindert, daß sich jene irgendwo so reichlich ansammeln, daß andere Stellen der Erdoberfläche von ihnen entblößt werden und dadurch die Möglichkeit des Kreislaufes in Frage gestellt würde. Dies gilt zunächst vom Wasser, welches seinen ewigen Kreislauf vom Land ins Meer und zurück in Dampfform vom Meer aufs Land durchläuft. Es gilt dies aber auch von Kohlensäure und Sauerstoff. Falls, so führt Ostwald (1) aus, „die grünen Pflanzen nicht gasförmigen Sauerstoff sondern eine sauerstoffreiche feste Verbindung ausschieden, wäre diese für die Erhaltung des Lebens ebenso notwendig wie feste Kohlenstoffverbindungen und würde von den übrigen Geschöpfen verzehrt, von den Menschen außerdem gesammelt und in den Handel gebracht werden". Bei dieser großen Bedeutung des gasförmigen Zustandes der genannten Endprodukte für den Kreislauf drängt sich natürlich die Frage auf, wie es denn mit den nicht gasförmigen Endprodukten, den Aschensalzen, steht und hier ist allerdings zu beachten, daß diese dauernd dem Meer zugeführt werden, ohne wieder zurückzukehren, so daß schließlich auf dem Festlande Mangel an ihnen eintreten könnte. Wie Pfeffer (2) ausführt, genügen vielleicht die in sehr großen Zeiträumen sich vollziehenden Niveauschwankungen, das Versinken und Auftauchen von Kontinenten, um diesem Mangel abzuhelfen. Was den Stickstoff angeht, so wäre es, wie ebenfalls Pfeffer ausführt, nicht undenkbar, daß die Flüchtigkeit von Ammoniumverbindungen und durch Denitrifikation zustande kommende Entbindung und Vergasung mit nachfolgender Wiederbindung durch kosmische Einflüsse oder durch Lebensvorgänge für die dauernde gleichmäßige Verteilung dieses Elementes von Bedeutung wäre.

Der Kreislauf der Nährelemente wurde in obigen Ausführungen nur in den allgemeinsten Zügen und zudem lückenhaft geschildert. Es sei betont, daß eine ganz wesentliche und unerläßliche Ergänzung dieser Ausführungen durch das 20. Kapitel vorliegenden Bandes, das von der Symbiose, der Metabiose und dem Antagonismus handelt, gegeben werden wird.

Wie war der Beginn dieses Kreislaufes, und wie wird das Ende sein? Auf diese Frage wird die Wissenschaft dauernd die Antwort schuldig bleiben. Nur etwa soviel kann gesagt werden, daß von Organismen nicht notwendigerweise zuerst Chlorophyllpflanzen vorhanden gewesen sein müssen, was gelegentlich behauptet worden ist; denn es ist ebensogut möglich, ja wohl wahrscheinlicher, daß zuerst chemosynthetisch arbeitende Wesen einfachster Organisation auf unserem Planeten auftraten.

Und was das Ende des Kreislaufes und damit des Lebens anlangt, so ist soviel sicher, daß Leben nur solange andauern kann, als die nötige Energiequelle dafür vorhanden ist, das ist die Sonnenwärme. Sprachen wir in diesem Paragraphen von einem „Kreislauf der Stoffe", so darf doch nicht auch von einem Kreislauf der Energie geredet werden. Es handelt sich vielmehr um einen einseitigen Strom von Energie, der sich von der Sonne in den Weltenraum und damit auch auf die Erde ergießt. Daß die auf diese Weise in den Weltenraum ausgestrahlte Energie später wieder irgendwie konzentriert und wieder nutzbar würde, ist nach Ostwald (1) ebenso unwahrscheinlich, wie das Berganfließen des Wassers. Sobald also die in der Sonne vor sich gehenden energieliefernden Verbrennungsvorgänge zu Ende sein werden und die auf der Erde in Gestalt organischer Verbindungen gespeicherte chemische Energie frei geworden sein wird, ohne daß andere Energie-

quellen an deren Stelle verfügbar geworden wären, muß das Leben auf Erden erlöschen.

Literatur

zum Kapitel Spezielle Ernährungsphysiologie.

***Adler,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 11, S. 215. ***Artari,** A., (1) Abh. d. Naturf. Ges. zu Halle, 1897, Bd. 21, S. 113. ***Bachmann,** H., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1899, Bd. 34, S. 279. ***Banning,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., Bd. 8, S. 395. ***Bary, A. de,** (1) Bot. Ztg., 1886, Bd. 34, S. 377. ***Behrens,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 584. — (2) Ebenda, 1898, Bd. 4, S. 514. — (3) Ebenda, 1902. Bd. 8, S. 114. ***Beijerinck,** M. W., (1) Bot. Ztg., 1888, Bd. 46, S. 725. — (2) Ebenda, 1890, Bd. 48, S. 725. — (3) Versl. e. Med. d. k. Ak. v. Wetenschapen te Amsterdam, Afd. Natuurk., 1890, II. T. 7, S. 239. — (4) Bot. Ztg., 1891, Bd. 49, S. 705. — (5) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 11, S. 68. — (6) Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. 14, S. 827. — (7) Ebenda, 1894, Bd. 16, S. 49. — (8) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 209. — (9) Ebenda, 1900, Bd. 6, S. 2. — (10) Ebenda, 1900, Bd. 6, S. 193. — (11) Ebenda, 1901, Bd. 7, S. 33. — (12) Ebenda, 1901, Bd. 7, S. 561. — (13) Ebenda, 1904, Bd. 11, S. 593. ***Beijerinck,** M. W., und **van Delden,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 33. ***Benecke,** W., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1894, Bd. 12, S. 105. - (2) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. 28, S. 487. — (3) Bot. Ztg., 1896, Bd. 54, S. 97. — (4) Ebenda, 1898, Bd. 56, S. 83. ***Bourquelot, M.**, und **Graziani,** (1) Bull. Soc. mycol. de France, 1892, Bd. 8, S. 147. ***Brefeld,** O., (1) Bot. Untersuchungen ü. Schimmelpilze, I, Leipzig 1872. ***Bremer,** W., (1) Die fettverzehrenden Organismen in Nahrungs- und Futtermitteln. Diss., München 1902. ***Bruhne,** K., (1) Zopfs Beiträge z. Phys. u. Morph. nied. Organismen, 1894. H. 4, S. 1. ***Buchner,** E., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1892, Bd. 25, S. 1161. ***Butkewitsch,** Wl., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1903, Bd. 38, S. 147. ***Christomanos,** A., (1) Z. f. Hyg., 1901, Bd. 36, S. 258. ***Chudjakow,** N. **von,** (1) Zur Lehre von der Anaerobiose. Moskau 1896, (Russisch); ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 389. **Clark,** J. F., (1) Bot. Gaz. 1899, Bd. 28, S. 289 u. 378. ***Cohn,** F., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1870, Bd. 1. S. 127. ***Coupin,** H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 136, S. 392. — (2) Ebenda. 1904, Bd. 138, S. 389. ***Coupin,** H., und **Friedel,** J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 138, S. 1118. ***Cramer,** E., (1) Arch. f. Hyg., 1892, Bd. 16, S. 151. — (2) Ebenda 1895, Bd. 22, S. 167. ***Cugini,** G., (1) Nuovo giornale bot. ital., 1876, Bd. 8, S. 261 ***Czapek,** Fr., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 49. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1899, Bd. 17, S. 166. — (3) Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path., 1902. Bd. 1, S. 538, Bd. 2, S. 547; 1903, Bd. 3, S. 47. ***Deycke** und **Vogtländer,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 29, S. 617. ***Diakonow,** N. W., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1887, Bd. 5, S. 380. ***Duclaux,** E. P., (1) Ann. Pasteur, 1889, Bd. 3, S. 109. — (2) Traité de Microbiologie, 1899, Bd. 2, S. 115. ***Elfving,** F., (1) Studien über die Einwirkung des Lichtes auf d. Pilze. Helsingfors 1890. ***Emmerling,** O., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1899, Bd. 32, S. 1915. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 35, S. 2289. ***Emmerling,** O., und **Abderhalden,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 337. ***Eschenhagen,** F., (1) Ueber den Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen. Diss., Leipzig 1889. ***Falck,** R., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1901, Bd. 8, S. 213. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 8, S. 307. ***Fedoroff,** A. K., (1) Wratsch, 1895, Bd. 16, S. 1084; ref. in Chem. Centralbl., 1896, Bd. I, S. 266. ***Fichtenholz,** A., (1) Comptes rend. de l'Ac, 1899, Bd. 128, S. 442. ***Fischer,** Alfr., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1894, Bd. 27, S. 163. — (2) Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl., Jena 1903. ***Fischer,** E., und **Lindner,** P., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1895, Bd. 28, S. 3034. ***Fitz,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1878, Bd. 11, S. 42 u. Bd. 12, S. 1890. ***Fränkel,** A., (1) Hyg. Rundsch., 1899, Bd. 4, S. 769. ***Gasperini,** (1) Ann. de microgr., 1890, Bd. 2, S. 449. ***Gerlach,** M., und **Vogel,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 109. — (2) Ebenda, 1903, Bd. 10, S. 636. ***Gessard,** C., (1) Ann. Pasteur, 1892, Bd. 6, S. 801 (dort d. frühere Lit.). ***Godlewski,** E., (1) Ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 458. ***Gottheil,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 430. ***Gran,** H. H., (1) Bergens Museums Aarbog, 1902, Nr. 2. ***Günther,** E., (1) Beitrag zur mineralischen Nahrung der Pilze. Diss, Erlangen 1897. ***Henneberg,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 223. ***Heraeus,** W., (1) Z. f. Hyg., 1886, Bd. 1, S. 193. ***Herzberg,** P., (1) Zopfs Beiträge z. Phys. u. Morph. nied. Organismen, 1895, H. 5, S. 1. ***Hiltner,** L., und **Störmer,** K., (1) Arb. a. d. Biol. Abt. am K. Ges.-Amt, 1903, Bd. 3, H. 5, S. 445. ***Holtermann,** K., (1) Mykologische Untersuchungen aus den Tropen; ref. in Bot. Ztg., 2. Abt., 1898, Bd. 56, S. 269. — (2) Annals Royal bot. Gardens Peradeniya, 1902, Bd. 1, Teil 2; ref. in Centralbl. f.

Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 872. ***Heyer, D. P.**, (1) Bijdrage tot de Kennis van de Azijnbacterien. Diss., Leiden 1898; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 867. ***Hueppe, F.**, (1) Methoden der Bakterienforschung, Wiesbaden 1891. ***Inghilleri**, (1) Verhandlungen d. XI. intern. medic. Kongresses in Rom 1894; Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 821. ***van Iterson, G.**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 11, S. 689. ***Iwanow, L.**, (1) Jahrb. wiss. Bot., 1900, Bd. 36, S. 355. — (2) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 39, S. 31. ***Iwanowski, D.**, (1) Untersuchungen über die Alkoholgärung, St. Petersburg 1894, Russ.; ref. in Botan. Centralbl., 1896, Bd. 65, S. 165. ***Jensen, Hj.**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 716. ***Jordan, E. V.**, (1) Bot. Gaz., 1899, Bd. 27, S. 19. ***Jost, L.**, (1) Biolog. Centralbl., 1900, Bd. 20, S. 625. ***Kanter, R. M.**, (1) Ueber die Wirkung der Salze einiger Schwermetalle auf das Wachstum und die chemische Zusammensetzung des Aspergillus niger. Diss., St. Petersburg 1903; ref. in Bot. Centralbl., 1904, Bd. 95, S. 369. ***Mac Kenney, R. E. B.**, (1) Proc. biol. Soc. of Washington, 1902, Bd. 15, S. 228; cit. n. Pfeffer (2). ***Klebs, G.**, (1) Jahrb. wiss. Bot., 1899, Bd. 33, S. 513. ***Kossowicz, Alex.**, (1) Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen Oesterreichs, 1903, Bd. 6, S. 27. — (2) Ebenda, 1903, Bd. 6, S. 731. — (3) Ebenda, 1904, Bd. 7, S. 404. ***Kuntze, W.**, (1) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 34, S. 169. ***Lafar, F.**, (1) Landw. Jahrbücher, 1895, Bd. 24, S. 445. ***Laurent, E.**, (1) Ann. Pasteur, 1889, Bd. 3, S. 362. — (2) Ann. Soc. belge de Microsc., 1890, Bd. 14, S 29. ***Lepierre, Ch.**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1901, Bd. 133, S. 113. ***Liesenberg, C.**, und **Zopf, W.**, (1) Zopfs Beitr. z. Phys. u. Morph. nied. Organismen, 1892, H. 1, S. 1. ***Linossier, G.**, und **Roux, G.**, (1) Arch. de méd. exp., 1890, Bd. 2, S. 62. ***Loew, O.**, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1881, Bd. 14, S. 450. — (2) Biol. Centralbl., 1890, Bd. 10, S. 577. — (3) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 11, S. 462. — (4) Ebenda, 1892, Bd. 12, S. 361. — (5) Flora, 1892, Bd. 50, S. 368. — (6) Journal of the Coll. of science of Tokyo, 1896, Bd. 9, S. 273. — (7) Bot. Centralbl., 1898, Bd. 74, S. 202. ***Loew und Kozai**, (1) Bull. Coll. agriculture, Tokyo, 1903, Bd. 5, S. 2. ***Luckhardt, E.**, (1) Ueber Variabilität und Bedingungen der Farbstoffbildung bei Spaltpilzen. Diss., Freiburg 1901. ***Lutz**, (1) Ann. des sc. nat., Bot., 7. sér., 1898, Bd. 7, S. 1. ***Maassen, A.**, (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1895, Bd. 12, S. 390. — (2) Ebenda, 1901, Bd. 18, S. 21. ***Mayer, Ad.**, (1) Landw. Versuchsstationen, 1869, Bd. 15, S. 443. ***Meißner, R.**, (1) Landw. Jahrbücher, 1901, Bd. 30, S. 497. ***Meyer, Arthur**, (1) Flora, 1897, Bd. 84, S. 185. ***Michaelis, G.**, (1) Arch. f. Hyg., 1900, Bd. 36, S. 285. ***Molisch, H.**, (1) Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen, Jena 1892. — (2) Sitzgsber. d. k. Ak. d. Wiss. in Wien, math.-nat. Kl., 1894, Bd. 103, 1. Abt., S. 554. — (3) Ebenda, 1895, Bd. 104, 1. Abt., S. 783. ***Nägeli, C. von**, (1) Untersuchungen über niedere Pilze, München u. Leipzig 1882, S. 67. ***Nathansohn, A.**, (1) Mitt. d. zool. Stat. Neapel, 1902, Bd. 15, S. 655. ***Nikitinsky, J.**, (1) Jahrb. wiss. Bot., 1902, Bd. 37, S. 365. — (2) Ebenda, 1904, Bd. 40, S. 1. ***Nösske, H.**, (1) Arch. f. klin. Chirurgie, 1900, Bd. 60, S. 266. ***Omelianski, W.**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 190. ***Ono, N.**, (1) Journal of the Coll. of science Tokyo, 1900, Bd. 13, S. 141. ***Ostwald**, Wilh., (1) Grundlinien der anorgan. Chemie. 1. Aufl., Leipzig 1900. ***Pasteur, L.**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1858, Bd. 46, S. 635. ***Péré**, (1) Ann. Pasteur, 1892, Bd. 6, S. 512. ***Pfeffer, W.**, (1) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. 28, S. 206. — (2) Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Leipzig 1897—1904. ***Puriewitsch, K.**, (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1898, Bd. 16, S. 290. — (2) Schriften d. Naturf. Ges. Kiew, 1899, Bd. 16; ref. im Bot. Centralbl. 1900, Bd. 81, S. 109. ***Raciborski, M. von**, (1) Flora, 1896, Bd. 82, S. 107. ***Raulin, J.**, (1) Ann. des sc. nat., Bot., 1869, 5. sér., Bd. 11, S. 93. ***Reinitzer, Fr.**, (1) Bot. Ztg., 1. Abt., 1900, Bd. 58, S. 59. ***Reinke, J.**, (1) Untersuchungen a. d. bot. Inst. Göttingen, 1883, Bd. 3, S. 11. ***Richards, H. M.**, (1) Jahrb. wiss. Bot., 1897, Bd. 30, S. 665. ***Samkow, S.**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 11, S. 305. ***Schittenhelm** und **Schröter**, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 39, S. 203, Bd. 40, S. 62 u. 70. ***Schmidt, R. H.**, (1) Flora, 1891, Bd. 74, S. 300. ***Schreiber, O.**, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 20, S. 353. ***Schukow, I. v.**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 601. ***Schulz, A.**, (1) Annalen d. Oenologie, 1878, Bd. 7, S. 115. ***Seifert, W.**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 337. ***Stern, A. L.**, (1) Proc. chem. soc., 1899, S. 399. — (2) Ebenda, 1901, S. 17. ***Stoklasa, J.**, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1898, Bd. 127, S. 282. ***Stutzer, A.**, (1) Landw. Versuchsstationen, 1878, Bd. 21, S. 116. ***Ternetz, Ch.**, (1) Jahrb. wiss. Bot., 1900, Bd. 35, S. 273. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1904, Bd. 22, S. 261. ***Thiele, R.**, (1) Die Temperaturgrenzen der Schimmelpilze. Diss., Leipzig 1896. ***Thumm, K.**, (1) Arbeiten a. d. bakt. Institut d. techn. Hochschule Karlsruhe, 1895, Bd. 1, S. 291. ***Tubeuf, C. Freiherr von**, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 127. ***Wehmer, C.**, (1) Bot. Ztg., 1891, Bd. 49, S. 233. — (2) Beiträge z. Kenntnis einheim. Pilze, I. Hannover u. Leipzig 1893; II. Jena 1895. — (3) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1895, Bd. 13, S. 257. — (4) Bot. Centralbl., 1899, Bd. 80, S. 449. — (5) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 660. ***Went, F. C.**, (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.,

1896, Bd. 16, S. 158. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 544. ***Went,** F. C., und **Prinsen-Geerligs,** C., (1) Verh. d. Kon. Ak. van Wetensch. te Amsterdam, 1895, II, 4, Nr. 2. ***Winogradsky,** S., (1) Arbeiten d. St. Petersburger Naturf. Ges., 1884, Bd. 14, S. 132; ref. in Bot. Centralbl., 1884, Bd. 20, S. 165. — (2) Bot. Ztg., 1888, Bd. 46, S. 261. — (3) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 121, S. 742. ***Winogradsky,** S., und **Omelianski,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 329. ***Zöller,** (1) Sitzgsber. d. phys.-med. Societät zu Erlangen v. 10. 7. 1871; cit. nach Reinke (1). ***Zopf,** W., (1) Entwicklgsgeschichtl. Untersuchungen über Crenothrix polyspora, Berlin 1879. — (2) Beiträge z. Phys. u. Morph. nied. Organismen, Leipzig 1892.

(Manuskript-Einlauf: 30. März 1904).

15. Kapitel.

Die Spaltung racemischer Verbindungen in ihre optisch-aktiven Komponenten durch die Tätigkeit von Kleinlebewesen.

Von Dr. O. Emmerling,
Professor an der Universität zu Berlin.

§ 90. Die verschiedenen Verfahren zur Spaltung racemischer Verbindungen.

Racemische Verbindungen bestehen aus zwei gleich konstituierten, aber das polarisierte Licht entgegengesetzt drehenden Komponenten und sind optisch inaktiv. Während die natürlich vorkommenden oder mittelst 5 biologischer Prozesse gewonnenen Substanzen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen fast stets optisch aktiv sind, treten die künstlich gewonnenen regelmäßig in der inaktiven, racemischen Form auf.

Daß die Natur die aktive Substanz hervorbringt, kann nicht verwundern, wenn man bedenkt, daß der lebende Organismus über eine 10 große Anzahl ebenfalls optisch aktiver Moleküle verfügt, welche, wie beispielsweise die Enzyme, beim Auf- und Abbau von Verbindungen tätig sind, und von welchen durch zahlreiche Versuche und Beobachtungen festgestellt werden konnte, daß ihre Funktionen sich auf Moleküle, die einen mit dem ihrigen ähnlichen Bau haben, zu erstrecken pflegen, so 15 daß wieder aktives Produkt erzeugt wird.

Durch einfache Operationen, wie Kristallisation, Destillation und ähnliche Verfahren, die racemischen Körper in ihre beiden Komponenten zu zerlegen, gelingt nicht. Man kennt jedoch drei Wege, auf welchen eine derartige Spaltung erfolgen kann. 20

Bei der ersten Methode benutzt man die Eigenschaft racemischer Körper, sich in Form bestimmter Verbindungen, z. B. in Form von Salzen, spontan in enantiomorphe Kristalle zu zerlegen. Das bekannteste Beispiel einer solchen Spaltung, welches zugleich das erste einer Zerlegung racemischer Körper überhaupt ist und den Namen der Racemie in die 25 Wissenschaft eingeführt hat, wurde von Pasteur (1) nach seinen Beobachtungen an dem Natrium-Ammoniumsalz der Traubensäure (*acide racémique*) mitgeteilt. Unter gewissen Bedingungen zerfällt dieses Salz nämlich in rechts und links drehende Tartrate, welche sich bezüglich

gewisser hemiedrischer Kristallflächen wie Spiegelbilder verhalten. Durch mechanisches Auslesen der verschiedenen Salze und Zerlegen in ihre Säuren kann man so die Rechts- und die Linksweinsäure gewinnen. Beispiele derartiger Spaltungen sind recht selten.

5 Ein zweiter Weg verfolgt das Ziel der Trennung in der Weise, daß die racemische Verbindung mit optisch aktiven Körpern kombiniert wird, Säuren mit Basen, und umgekehrt. Diese Methode ist die bei weitem gebräuchlichste und am schnellsten und sichersten zum Ziele führende. Meistens zeigen solche Kombinationen verschiedenes Verhalten in ihrer 10 Löslichkeit, Kristallisationsfähigkeit und anderen Eigenschaften. Wenn man beispielsweise das inaktive Zimmtsäuredibromid nach Lothar Meyer (1) mit Strychnin, einer aktiven Base, behandelt, so scheidet sich das Strychninsalz der Linksverbindung aus alkoholischer Lösung als schwer lösliche Verbindung aus, während die Rechtsverbindung in Lösung 15 bleibt. Purdie und Walker (1) trennten auf ähnliche Weise mittelst der Strychninsalze die optisch aktiven Milchsäuren, und die Literatur ist reich an analogen Beispielen, bei denen auf der einen Seite außer Strychnin das Brucin, Chinin, Cinchonin, auf der anderen Seite die optisch aktiven Weinsäuren, Milchsäuren u. a. verwendet wurden.

20 Die dritte Trennungsmethode endlich ist eine biologische, und sie ist es, welche an dieser Stelle unser Interesse am meisten in Anspruch nimmt, obschon sie mit vielen Unbequemlichkeiten und Mängeln behaftet ist, so daß man sie für praktische Zwecke nur ausnahmsweise heranzuziehen pflegt. Wieder war es Pasteur (1), welcher hier die grund-25 legende Beobachtung machte, daß traubensaure Salze durch die Lebenstätigkeit niederer Pilze optisch aktiv werden. Es mußte somit von dem Pilz die eine Komponente der racemischen Verbindung beseitigt, verzehrt, veratmet oder doch in erhöhterem Grade angegriffen werden als die andere. Im vorliegenden Falle wurde die Lösung des Ammonium-30 racemats links drehend, und nach längerem Wachstum des Pilzmaterials fand sich nur noch linksweinsaures Ammonium vor.

§ 91. Das biologische Verfahren.

Diesem ersten Beispiel einer biologischen Spaltung racemischer Körper hat sich eine stattliche Reihe ähnlicher Beobachtungen angereiht. 35 Von den beiden anderen Methoden unterscheidet sich diese biologische zu ihrem Nachteil dadurch, daß es immer nur gelingt, die eine optischaktive Komponente zu gewinnen, da ihr optischer Antipode der Vernichtung anheimfällt. Strenggenommen besteht demnach dieser biologische Vorgang gar nicht in einer Spaltung, oder dieselbe ist nur 40 eine momentane.

Pasteur's spaltendes (wir wollen den Ausdruck beibehalten) Pilzmaterial bestand zunächst aus unbestimmten Gemischen, später verwendete er Schimmelpilze, und sie sind es, welche in der Folge mit Vorliebe bei ähnlichen Versuchen verwendet worden sind. Außer bei 45 Schimmelpilzen hat man aber auch bei anderen Vertretern der niederen Pflanzen, wie Hefen und Bakterien, spaltende Eigenschaften beobachtet und benutzt.

Es hat sich nun bei diesen Versuchen ergeben, daß derselbe Pilz immer nur die eine bestimmte Komponente verbraucht, resp. für seine 50 Zwecke bevorzugt, was, wie oben bereits erwähnt, offenbar auf die

Struktur seiner protoplasmatischen aktiven Bestandteile zurückzuführen ist. Aehnliche Erscheinungen im Elektionsvermögen begegnen wir ja auch gegenüber nicht racemischen Körpern. So hat Ed. Buchner (1) gezeigt, daß Schimmelpilze wohl die Fumarsäure, nicht aber auch die Maleinsäure konsumieren, und Boersch (1) hat dies auch bezüglich der Sarcina flava festgestellt. Daß α-Aminosäuren der aliphatischen Reihe für Schimmelpilze das geeignetste Material zur Eiweißbildung sind, geht aus den Arbeiten Czapek's (1) hervor, und O. Emmerling (1) fand, daß diese Pilze nur aus α-Aminosäuren Oxalsäure zu bilden imstande sind. Bekannt ist, daß Hefen die Rechts-Glucose, d-Fructose, d-Mannose, d-Galactose vergären, nicht aber die gleichkonstituierte, aber sterisch verschiedene Talose.

Man sollte daher der Meinung sein und ist es in der Tat lange gewesen, daß bei der Spaltung racemischer Körper durch Mikroorganismen ausschließlich der eine aktive Bestandteil angegriffen werde. Wenn nun auch einzelne Beispiele einer solchen quantitativen Spaltung bekannt geworden sind, so liegen doch die Verhältnisse in weitaus den meisten Fällen nicht so einfach. Besonders die Arbeiten Pfeffer's (1) haben bewiesen, daß es sich bei der Spaltung racemischer Körper nur um eine relative Deckung des Nahrungsbedürfnisses der Pilze handelt, während Pasteur glaubte, daß z. B. bei der Traubensäurespaltung ausschließlich die Rechtsweinsäure angegriffen werde. Pfeffer zeigte, daß von *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Aspergillus flavescens*, *Monilia candida*, einer Hefenart und einem Vertreter der Schizomyceten die Rechtsweinsäure zwar entschieden bevorzugt wird, daß aber auch die Linksweinsäure nicht ganz intakt bleibt. Andererseits griff eine Bakterienart die Linksweinsäure bedeutend mehr an als die Rechtsform, aber auch nicht ausschließlich. Die Spaltung der Traubensäure hängt mit dem Nährwert der Spaltungsprodukte zusammen. Für gewisse Organismen sind beide Komponenten gleich gute Nährstoffe, für andere mehr die Rechts-, für noch andere mehr die Linksweinsäure. Bei der inaktiven Mandelsäure beobachtete Pfeffer, daß in vier Fällen *Penicillium* die beiden aktiven Bestandteile gleich stark verzehrte, in drei anderen aber der Verbrauch der Rechtsmandelsäure überwog. Es scheinen demnach auch gewisse äußere Einflüsse sich geltend zu machen, welche noch nicht genügend bekannt sind.

Zu diesen äußeren Einflüssen gehören nun ohne Zweifel die Bedingungen, unter welchen man die Spaltung vor sich gehen läßt, und letztere sind es auch zum Teil, welche in einzelnen Fällen zu nicht übereinstimmenden Resultaten geführt haben. Wir verdanken über diese Fragen besonders C. Ulpiani und S. Condelli (1) Versuche und Aufklärungen. Zunächst hängt der Gang einer Spaltung natürlich von der Art des Pilzmaterials ab. Von wesentlichem Einfluß sind jedoch Temperatur, Sauerstoffmenge und Licht. Das Spaltungs- resp. Zerstörungsvermögen ist für *Aspergillus niger* bei Sauerstoffmangel größer als bei reichlicher Sauerstoffzufuhr. Für *Penicillium glaucum* ist die Temperaturgrenze 35°, während *Aspergillus niger* hier sein Temperaturoptimum hat. Sonnenlicht scheint im allgemeinen spärlichen Einfluß auszuüben. Die verschiedenen Pilze verlangen verschiedene Konzentrationen und verschiedene Acidität ihrer Nährböden; so beansprucht *Penicillium* stärkere Konzentration und geringere Acidität als *Aspergillus niger*. Von mineralischen Nährsalzen verlangen die Pilze nur sehr geringe

Quantitäten. Als vorteilhaft sind bekannt geringe Gaben von Stickstoff, Phosphor, Schwefel, Magnesium.

§ 92. Spaltung durch Hefen.

Was die älteren Angaben über die Verwendung bestimmter Pilze 5 betrifft, so steht die Qualität resp. Reinheit des spaltenden Materials leider nicht überall außer Zweifel. Daher mögen auch einige Widersprüche in der Literatur rühren. Was man früher für *Penicillium glaucum* gehalten hat, mag hier und da eine Mischkultur gewesen sein; ebenso verhält es sich mit anderen dieser oft nicht ohne Mühe trennbaren Pilz- 10 gattungen. Daß sich beispielsweise die der Gattung *Penicillium* nahestehenden *Citromyces*-Arten, welche Glucose zu Citronensäure oxydieren, mit bloßem Auge überhaupt nicht von dem gewöhnlichen *Penicillium glaucum* unterscheiden lassen, ist von WEHMER hervorgehoben worden. Manche von den in der Literatur verzeichneten Befunden mögen darum 15 wohl mit Vorsicht aufzunehmen sein, und es ist sehr zu begrüßen, daß einige neuere Forscher prinzipiell nur mit notorischen Reinkulturen arbeiten und die älteren Angaben kontrollieren. Der Anfang dazu ist namentlich von MAC KENZIE und HARDEN (1) gemacht worden.

Der besseren Uebersicht wegen sollen im folgenden nun die ein- 20 zelnen Spaltungen aufgeführt werden, wie sie durch Hefen, Schimmelpilze und Bakterien erzielt worden sind. Bei den Hefen hängt die spaltende Tätigkeit, soweit sie sich auf Zuckerarten erstreckt, eng mit der Fähigkeit zusammen, diese Zucker in Gärung zu versetzen, und muß hier in betreff ausführlicher Angaben auf das 18. und 19. Kapitel 25 des IV. Bandes verwiesen werden.

Für Spaltungen racemischer Körper sind die Hefen besonders von E. FISCHER (1) bei seinen Arbeiten über die Zuckerarten verwendet worden.

M a n n o s e. Bierhefe greift im wesentlichen die d-Form an, während 30 die l-Mannose ziemlich intakt bleibt. Eine zehnprozentige Lösung der racemischen Mannose, mit viel Bierhefe versetzt, fing bei 30° an zu gären, und nach 36 Stunden war die Spaltung resp. Vergärung der d-Mannose eine vollständige. Es ist hier zu beachten, daß die d-Mannose in der Natur sehr verbreitet ist und den Pilzen zur Verfügung steht, 35 so daß dieselben sich offenbar an diese Form gewöhnt haben und im geometrischen Aufbau ihrer aktiven Substanzen Beziehungen zu dem der d-Mannose zeigen.

L ä v u l o s e wird nach E. FISCHER in derselben Weise wie Mannose von Bierhefe, d. h. in ihrer d-Form angegriffen.

40 G a l a c t o s e. Bierhefe greift bei 30° C nur die Rechtskomponente an, so daß man nach der Vergärung die Linkskomponente gewinnen kann (E. FISCHER u. J. HERTZ).

T r a u b e n s ä u r e. Es wird, wie bereits oben kurz erwähnt, nach PFEFFER durch *Monilia candida* die Rechtsweinsäure bedeutend mehr 45 angegriffen als ihr optischer Antipode.

M a n d e l s ä u r e. Der *Saccharomyces ellipsoideus* erzeugt zufolge LEWKOWITSCH (1) aus der inaktiven Form die Rechtsmandelsäure.

M i l c h s ä u r e. Nach neueren Untersuchungen von MAC KENZIE und HARDEN (1), bewirkt *Saccharomyces ellipsoideus* eine Spaltung, wobei 50 5 bis 10 Proz. Rechtsmilchsäure entstehen.

Zimmtsäuredibromid unterliegt nach STAVENHAGEN und FINKENBEINER (1) durch Hefen einer sehr unvollständigen Spaltung; das so entstandene Produkt drehte rechts.

§ 93. Spaltungen durch Schimmelpilze.

Traubensäure. Die Spaltung der Traubensäure durch *Penicillium glaucum* wurde zuerst von PASTEUR beobachtet. Der Pilz zerstört die Rechtsweinsäure, doch fehlen in PASTEUR's Arbeit Angaben über die Vollständigkeit des Prozesses. Daß sowohl von *Penicillium glaucum* wie von *Aspergillus niger* und *A. flavus* zwar die Rechtsform mehr angegriffen wird, daß jedoch auch der andere Teil nicht verschont bleibt, hat besonders PFEFFER nachgewiesen. Es liegen außerdem noch Arbeiten von ULPIANI und CONDELLI (1) und von MAC KENZIE und HARDEN (1) vor. Erstere lösten 120 g Traubensäure in 5 Liter Wasser, welches 7 g Ammoniumnitrat, 4 g Kaliumphosphat, 1 g Magnesiumsulfat und 0,5 g Kaliumsulfat enthielt, und säten *Aspergillus niger* ein. Bis zum 32. Tage fand fast ausschließlich Zerstörung der Rechtsweinsäure statt, vom 32. bis 65. Tage wurde gleichzeitig die Linkssäure merklich angegriffen. Dann trat vom 65. bis 123. Tage eine Abnahme des Gärungsprozesses überhaupt ein, und nach dieser Zeit konnte keine Abnahme der noch vorhandenen Linkssäure mehr wahrgenommen werden, während die letzten Reste der Rechtsweinsäure verschwanden. Die Beobachtungen von MAC KENZIE und HARDEN, welche *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger* und *Aspergillus griseus* auf Lösungen von Ammoniumracemat wachsen ließen, bestätigen die Tatsache, daß von sämtlichen Pilzen die Rechtssäure in höherem Grade angegriffen wird als die Linkssäure.

Mandelsäure. Nach LEWKOWITSCH (2) wachsen *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger* gut auf Mandelsäurelösungen und verzehren die Linksform. Bei den Versuchen war nach 6 Wochen das Wachstum der Pilze beendet. Auffallend mußte die Beobachtung dieses Forschers sein, daß durch *Penicillium*, wenn dies nicht auf, sondern in der Flüssigkeit wuchs, also bei Sauerstoffmangel, aus 3 g inaktiver Mandelsäure 0,1 g Linkssäure entstanden sein sollten. Diese Versuche haben nun neuerdings durch MAC KENZIE und HARDEN (1) eine Ueberprüfung gefunden und konnten nicht bestätigt werden. Es wurden Lösungen von 15 g i-Mandelsäure, welche mit neun Zehntel der berechneten Kalimenge neutralisiert war, in 500 ccm Wasser angewendet. *Penicillium* wuchs darauf schlecht. Nach vier Monaten wurde filtriert und von neuem mit *Penicillium* besät. Nach weiteren sechs Wochen konnten 14 g der inaktiven Säure wiedergewonnen werden; von linksdrehender Säure wurden nur Spuren beobachtet. Die beiden Forscher glauben daher, annehmen zu dürfen, daß die *Penicillium*-Kultur des früheren Beobachters nicht rein gewesen sein könne. *Aspergillus niger* erzeugte nach 4 Monaten Linksmandelsäure, *Aspergillus griseus* hingegen Rechtsmandelsäure. PFEFFER hatte festgestellt, daß in vier Fällen *Penicillium glaucum* die aktiven Komponenten gleichmäßig verzehrte, in drei anderen dagegen die Rechtsmandelsäure bevorzugte.

Milchsäure. Als LEWKOWITSCH (3) Lösungen von i-milchsaurem Kalk mit *Penicillium glaucum* besäte, wurden die Lösungen nach einiger Zeit nach dem Ansäuern rechtsdrehend, eine Beobachtung, welche später von LINOSSIER (1) bestätigt wurde, wobei derselbe jedoch bemerkte, daß

die Lösung erst dann aktiv wurde, wenn der Pilz zu wachsen aufhörte, also abgeschwächt war, wofür eine Erklärung nicht gegeben ist. Ebenfalls Rechtssäure erhielten MAC KENZIE und HARDEN (1) bei der Spaltung des inaktiven milchsauren Kalks (2,25 g Säure in 600 ccm Wasser) durch *Penicillium glaucum*. Letzteres gedieh so gut und wirkte so schnell, daß bereits nach 14 Tagen 24,4 Proz. Rechtsmilchsäure entstanden waren. Aehnliche Resultate wurden mit *Aspergillus niger* und *Aspergillus griseus* erzielt.

Glycerinsäure. Nach LEWKOWITSCH (3) wird eine Lösung von i-Ammoniumglycerat durch *Penicillium glaucum* linksdrehend; der Pilz greift also die Rechtssäure stärker an, was MAC KENZIE und HARDEN bezüglich *Penicillium*, *Aspergillus niger* und *Aspergillus griseus* bestätigen konnten.

Eine größere Anzahl früher unberücksichtigt gebliebener Säuren sind in neuerer Zeit ebenfalls von MAC KENZIE und HARDEN untersucht worden.

Dimethyloxybernsteinsäure wird von *Penicillium glaucum* angegriffen, jedoch beide Komponenten gleichmäßig, während *Aspergillus niger* und *Aspergillus griseus* etwas linksdrehendes Salz erzeugen.

Aethyloxypropionsäure. *Penicillium* bildet wenig Linkssäure, *Aspergillus griseus* aber Rechtssäure.

α-Propyloxypropionsäure. In der Lösung des Kaliumsalzes bewirkte *Penicillium glaucum* nach $2^1/_2$ Monaten bei gutem Wachstum schwache Linksdrehung.

α-Hydroxybuttersäure. Sowohl *Penicillium* als auch *Aspergillus niger* wuchsen gut und gaben ein linksdrehendes Zinksalz. *Aspergillus griseus* zeigte zwar ebenfalls gutes Wachstum, jedoch geringe Sporenbildung und erzeugte auch weniger linksdrehendes Salz.

β-Hydroxybuttersäure. Das Ammoniumsalz erwies sich als günstiger Nährstoff für *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger* und *Aspergillus griseus*. Das Produkt war bei beiden ersteren Pilzen linksdrehend, bei *Aspergillus griseus* dagegen rechtsdrehend.

Aepfelsäure. Auf einer Lösung von äpfelsaurem Kalk wuchs *Penicillium* gut, doch war die Drehung nach einem Monat außerordentlich schwach. Mit Hilfe des von WALDEN (1) angegebenen Uranylnitrat-Reagenzes konnte eine Linksdrehung festgestellt werden.

Methyloxybernsteinsäure. In dem Ammoniumsalze erzeugte *Penicillium* eine sehr schwache Linksdrehung.

Propyloxybernsteinsäure. Obschon *Penicillium* gut wuchs, blieb die Flüssigkeit inaktiv.

Aethyloxybernsteinsäure. Auch diese blieb, wenn das Kalksalz der Einwirkung von *Penicillium* ausgesetzt wurde, inaktiv, während im Kaliumsalz nach 2 Monaten wenig Linksäure entstanden war. PURDIE und WALKER (1) hatten Rechtssäure beobachtet.

Methyloxyphenylessigsaures Natron wird durch *Penicillium glaucum* linksdrehend, die vorgenannten zwei Aspergillusarten ergaben keine bestimmten Resultate.

Aethylphenylessigsäure. Resultate unbestimmt. Propylphenylessigsaures Ammon. *Penicillium glaucum* erzeugte etwas Rechtssäure; ebenso verhielt sich *Aspergillus niger*.

Aus den zahlreichen Versuchen MAC KENZIE's und HARDEN's ergaben sich als allgemeine Gesichtspunkte: 1) daß die inaktiven Säuren bezüglich ihrer Komponenten verschieden angegriffen werden und daß

der Grad der Spaltung von der Differenz zwischen den Angriffsgeschwindigkeiten abhängig ist; 2) daß die Substitution der Hydroxylgruppen in den aliphatischen Oxysäuren durch Alkyloxygruppen schwächeres Wachstum der Pilze bedingt, denn während dieselben in Lösungen der Lactate, Tartrate, Malate gut gedeihen, ist dies nicht der Fall in den Lösungen 5 der Dimethyloxybernsteinsäure, Alkyloxypropionsäure und Alkyloxybernsteinsäure. Die Verfasser stellen ihre Resultate in folgender Uebersicht zusammen:

Säure	Pen. glauc.	Asp. nig.	Asp. gris.	Säure	Pen. glauc.	Asp. nig.	Asp. gris.
Traubensäure	l	l	l	Aepfelsäure	l	—	—
Dimethyloxybernsteins.	l	l	l	Methoxybernsteinsäure	l	—	—
Milchsäure	l	l	l	Aethoxybernsteinsäure	l	—	—
α-Aethyloxypropions.	l	i	r	Propoxybernsteinsäure	i	—	—
α-Propyloxypropions.	l	—	—	Mandelsäure	l	l	d
α-Hydroxybuttersäure	l	l	l	Methoxyphenylessigs.	l	—	—
β-Hydroxybuttersäure	l	l	d	Aethoxyphenylessigs.	l	—	d
Glycerinsäure	l	l	l	Propoxyphenylessigs.	l	l	—

Außer vorstehend betrachteten stickstoffreien Säuren wurden noch die nachbenannten untersucht: 10

Mannonsäure. Zufolge E. FISCHER (1) spaltete *Penicillium* sehr unvollkommen und gab eine linksdrehende Lösung.

Diäthylbernsteinsäure wird nach C. A. BISCHOFF (1) durch *Penicillium glaucum*, obschon dasselbe in den Versuchen gut gedieh, nicht gespalten. 15

Phenylglycerinsäure. Zufolge PLÖCHL und MAYER (1) wuchsen *Penicillium*, *Aspergillus niger*, *Mucor mucedo*, *Oidium lactis* gut, am besten *Penicillium* und bewirkte nach sechs Wochen schwache Linksdrehung.

Von Aminosäuren sind besonders Alanin, Leucin, Asparaginsäure und Glutaminsäure untersucht worden. 20

Alanin. Nach E. FISCHER's (2) Angaben wuchs *Penicillium glaucum* nur schwach in einer zweiprozentigen Lösung, besser *Aspergillus niger*. Letzterer brachte 10 Proz. zum Verschwinden, und die Lösung des Restes als Hydrochlorat war schwach linksdrehend. Die spezifische Drehung desselben war $\alpha_D = -9{,}68^0$. O. EMMERLING konnte gutes Wachstum 25 bemerken. Dieselbe Beobachtung machten MAC KENZIE und HARDEN, welche auch bemerkenswerte Mengen von Rechtsalanin erzielten.

Leucin. Die Untersuchungen von E. SCHULZE (1), SCHULZE und BOSSHARD (1) und SCHULZE und LIKIERNIK (1) haben ergeben, daß *Penicillium glaucum* Leucin angreift und ein in salzsaurer Lösung links- 30 drehendes Produkt gibt.

Asparaginsäure. ENGEL (1) hat beobachtet, daß Lösungen dieser Säure, der Luft ausgesetzt, sich mit Pilzvegetationen bedeckten und rechtsdrehend wurden.

Glutaminsäure. SCHULZE und BOSSHARD (1) ließen *Penicillium* 35 *glaucum* auf Lösungen wachsen und stellten nach einiger Zeit Linksdrehung fest; zu analogen Ergebnissen sind später MENOZZI und APPIANI (1) gekommen.

Die Spaltungsversuche mittelst Schimmelpilzen haben sich aber auch auf andere Gruppen des chemischen Systems erstreckt, besonders sind es eine Anzahl von racemischen Alkoholen, welche zur Untersuchung gelangten. Hauptsächlich rühren die betreffenden Arbeiten 5 von Le Bel (1) und seinen Mitarbeitern her. Von Methyläthylcarbinol zerstört *Penicillium* besonders die Rechtskomponente. Das Gleiche ist der Fall bei Methyl-n-propylcarbinol und Methylbutylcarbinol. Dagegen wird von Aethylpropylcarbinol und Methyl-n-amylcarbinol vorzugsweise die Linkskomponente angegriffen.

10 Es war ganz interessant, Schimmelpilze auch auf jene Verbindungen einwirken zu lassen, welche ihre Asymmetrie nicht dem Kohlenstoff, sondern dem Stickstoff verdanken. Die Stickstoffasymmetrie ist überhaupt noch ein wenig bearbeitetes Gebiet, und die Untersuchung der Spaltbarkeit racemischer Verbindungen auf diesem Feld hat sich nur 15 auf zwei Verbindungen erstreckt. Die erste Mitteilung machte Le Bel über die Spaltbarkeit des Methyl-Aethyl-Propyl-Isobutylammoniumchlorids durch (unbestimmte) Pilzkulturen. Angeblich war die Verbindung linksdrehend geworden. Eine Wiederholung dieser Arbeit durch W. Marckwald und A. von Droste-Huelshoff (1) konnte jedoch die Angaben Le 20 Bel's nicht bestätigen, auf chemischem Wege ist die Verbindung später gespalten worden. Ferner hat auch E. Wedekind (1) vergeblich versucht, das o-Phenyl-Benzyl-Allyl-Methylammoniumchlorid durch Mikroorganismen zu zerlegen.

§ 94. Spaltungen durch Schizomyceten.

25 Spaltpilze sind verhältnismäßig wenig zur Zerlegung racemischer Körper herangezogen worden; in einzelnen Fällen mögen sie bei Verwendung unreiner Schimmelpilzkulturen tätig gewesen sein.

Nach Lewkowitsch (2) wird die Traubensäure durch Bakterien, deren nähere Charakterisierung unterblieben ist, angegriffen, indem Rechts-30 weinsäure entstand.

Frankland und Frew (1) beobachteten die Zersetzung des inaktiven glycerinsauren Kalks durch den aus Schafdünger isolierten *Bacillus ethaceticus*. Der rechtsdrehende Teil wurde zuerst angegriffen, später aber auch sein optischer Antipode.

35 Umgekehrt unterlag zufolge Frankland und Mac Gregor (1) beim Wachstum anderer unbestimmter Bakterien in inaktivem milchsaurem Kalk zuerst die Linkskomponente der Zersetzung. Der *Bacillus subtilis* ergab nach Mac Kenzie und Harden (1) in Ammoniumlactat ein schwach rechtsdrehendes Baryumsalz. Die inaktive Milchsäure wird 40 ferner von den Typhusbazillen gespalten, indem die Rechtskomponente übrig bleibt. Der *Bacillus coli* soll nach Péré (1) umgekehrt wirken. Nähere Angaben darüber findet man im 3. und im 6. Kapitel des II. Bandes.

Le Bel konstatierte eine Spaltung des Methyläthylcarbincarbinols durch die in der Lösung wuchernden Spaltpilze zu rechts-45 drehendem Amylalkohol. Ein Fall, in welchem der angegriffene Teil nicht einfach konsumiert, sondern in neue Produkte verwandelt wurde, ist ebenfalls von Le Bel angegeben worden; aus dem inaktiven a-Propylenglycol wurde nämlich durch aus Käse gewonnene Bakterien linksdrehendes Glycol hervorgebracht, während die Rechtskomponente zu 50 Milchsäure und Propionsäure vergoren wurde.

Propylglycol wird nach PÉRÉ (2) durch *Tyrothrix tenuis* gespalten, indem die Linksform rascher zerstört wird. Ferner beobachtete A. KLING (1), daß bei der Oxydation des Propylenglycols durch das durch BERTRAND bekannt gewordene Sorbosebakterium zu Acetol nur die eine Hälfte oxydiert wird. Die übrig gebliebene Hälfte war optisch aktiv. ULPIANI und CONDELLI (1) ließen 40 Bakterienarten auf Traubensäure, Milchsäure und Alanin einwirken. Dabei beobachteten sie, daß die Choleravibrionen die Rechtsweinsäure und die Rechtsmilchsäure konsumierten, das Linksalanin aber nicht angriffen.

Literatur

zum Kapitel Die Spaltung racemischer Verbindungen etc.

***Bischoff,** C. A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1891, Bd. 24, S. 1069. ***Boersch,** C., (1) Beitrag zur Kenntnis der Bakterien des Weines und zur Kenntnis der Hefen, Dissert., Erlangen, 1893. ***Buchner,** Ed., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1892, Bd. 25, S. 1163. ***Czapek,** Friedr., (1) HOFMEISTER's Beiträge z. chem. Physiol. u. Patholog., 1902, Bd. 3, S. 47—66. ***Emmerling,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 273. ***Engel,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1888, Bd. 106, S. 1734. ***Fischer, Emil,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1890, Bd. 23, S. 370. — (2) Ebenda, 1899, Bd. 32, S. 2459. ***Fischer** und **Hertz,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1892, Bd. 25, S. 1247. ***Frankland** und **Frew,** (1) Journal of the Chem. Society, 1891, Bd. 59, S. 96. ***Frankland** und **Mac Gregor,** (1) Chem. Society, Transact., 1892, S. 737. ***Kling,** A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 129, S. 1252. ***Le Bel,** (1) Bulletin Soc. chimique, 1880, 2. sér., Bd. 33, S. 106 u. 147; 1892, 3. sér., Bd. 7, S. 551; 1893, 3. sér., Bd. 9, S. 676; 1893, 3. sér., Bd. 9, S. 678; siehe auch Comptes rend. de l'Ac., 1878, Bd. 87, S. 213; 1879, Bd. 89, S. 312; 1881, Bd. 92, S. 532; 1891, Bd. 112, S. 725. ***Lewkowitsch,** J., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1882, Bd. 15, S. 1505. — (2) Ebenda, 1883, Bd. 16, S. 1568. — (3) Ebenda, 1883, Bd. 16, S. 2721. ***Linossier,** (1) Bulletin Soc. chimique, 1891, 3. sér., Bd. 6, S. 10. ***Mac Kenzie** und **Harden,** (1) Proceed. Chemical Soc., 1903, Bd. 19, S. 48. ***Marckwald,** W., und **Droste-Huelshoff,** A. **von,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1899, Bd. 32, S. 560. ***Menozzi** und **Appiani,** (1) Atti R. Acc. dei Lincei, 1892, 5. Ser., Bd. 1, S. 38. ***Meyer,** L., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1892, Bd. 25, S. 3121. ***Pasteur,** L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1858, Bd. 46, S. 615; 1860, Bd. 51, S. 298. ***Péré,** A., (1) Ann. Pasteur, 1892, Bd. 6, S. 512. — (2) Ebenda, 1897, Bd. 11, S. 600. ***Pfeffer,** W., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. 28, S. 205. ***Plöchl,** J., und **Mayer,** B., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1897, Bd. 30, S. 1611. ***Purdie,** T., und **Walker,** J. W., (1) Chemical Soc. Transactions, 1893, Bd. 63, S. 230. ***Schulze,** E., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1893, Bd. 26, S. 56. ***Schulze** und **Bosshard,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1885, Bd. 18, S. 388 und Z. f. physiol. Chem., 1886, Bd. 10, S. 134. ***Schulze** und **Likiernik,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1891, Bd. 24, S. 671. ***Stavenhagen** und **Finkenbeiner,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1894, Bd. 27, S. 456. ***Ulpiani** und **Condelli,** (1) Gaz. chim. ital., 1900, Bd. 30, I, S. 382. ***Walden,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1897, Bd. 30, S. 2889. ***Wedekind,** (1) Zeitschrift f. physikal. Chemie, 1903, Bd. 46, S. 235.

Fünfter Abschnitt.

Wirkung äußerer Einflüsse auf die Gärungsorganismen und gegenseitige Beeinflussung dieser selbst.

(Manuskript-Einlauf 30. April 1904.)

16. Kapitel.

Beeinflussung der Zuwachsbewegung und der Gestaltung durch physikalische Kräfte.

Von Prof. Dr. J. Behrens,

Vorstand der Großherzogl. landw. Versuchsanstalt Augustenberg bei Grötzingen in Baden.

§ 95. Allgemeines über die Zuwachsbewegungen der Gärungsorganismen.

Der Wachstumsgang ist, wie der Entwicklungsgang, aus inneren Ursachen bei jeder Form von Organismen im allgemeinen fest bestimmt. Die autonomen Wachstumsbewegungen können durch die Verhältnisse, soweit diese überhaupt Wachstum noch ermöglichen, und soweit die formalen Bedingungen des Wachstums erfüllt sind, in der Intensität des Verlaufs, also quantitativ, aber nicht qualitativ, verändert werden. Im Gegensatz zu den autonomen Wachstumsbewegungen, die hier zu behandeln sind, stehen die aitionomen Wachstumsbewegungen, welche durch äußere Verhältnisse (Licht, Wärme u. dgl.) erst hervorgerufen werden.

Die Verteilung des Wachstums ist bei den verschiedenen hierher gehörigen Organismen verschieden. Bei den Bakterien, denen sich die Hefen anschließen, ist das Wachstum auf jede Zelle des Verbandes gleichmäßig verteilt. So ist es wenigstens beim *Bacillus ramosus* (Frankland), welcher durch Marshall Ward (4) darauf hin eingehend untersucht worden ist. Dagegen ist bei den Schimmelpilzen, und zwar sowohl bei den nicht-cellulären Phycomyceten zufolge Errera (1) als auch bei den vielzelligen (*Botrytis*, *Aspergillus*, *Penicillium* etc.) zufolge Rein-

HARDT (1), die Zuwachsbewegung auf den äußersten Spitzenteil der Hyphe beschränkt.

Wie, soweit wir wissen, im gesamten Pflanzenreich, zeigen auch die Gärungsorganismen in ihrem Wachstum bei konstanten äußeren Verhältnissen die Erscheinung der sog. **großen Periode.** Das heißt: Jeder Abschnitt des Organismus wächst zuerst langsam, dann steigt allmählich die Wachstumsintensität bis zu einem Maximum, um von da an wieder zu fallen, bis der Zuwachs Null wird, der Abschnitt ausgewachsen ist. Das gilt für einzellige sowohl wie für mehrzellige Gärungsorganismen, soweit bei ihnen eine Sonderung in eine embryonal wachsende Zone und in fertige ausgewachsene Teile überhaupt vorhanden ist, also nicht auch für die Bakterien. Bei diesen ist das Wachstum jedes Abschnittes bei konstanten äußeren Verhältnissen in den aufeinanderfolgenden gleichen Zeiträumen auch ein gleichmäßiges. Die große Periode des Wachstums ist z. B. für die Fruchtträger von *Phycomyces nitens* durch die bereits erwähnten Untersuchungen ERRERA's (1) bekannt. Hier wird (*Fig. 61*) die große Periode durch eine Periode des Wachstumsstillstandes unterbrochen, die bei der Bildung des Sporangiums eintritt. Sobald diese erfolgt ist, setzt das Wachstum wieder ein, wird allmählich bis zu einem Maximum beschleunigt und sinkt von da an wieder, bis es endlich Null wird. Aehnlich verhalten sich andere Mucorineen, während bei *Pilobolus* nach GRÄNTZ (1) mit der Ausbildung des Sporangiums der Sporangienträger sein Wachstum überhaupt einstellt. Beide Fälle sind gleichzeitig Beispiele für korrelative Hemmungen des Wachstums.

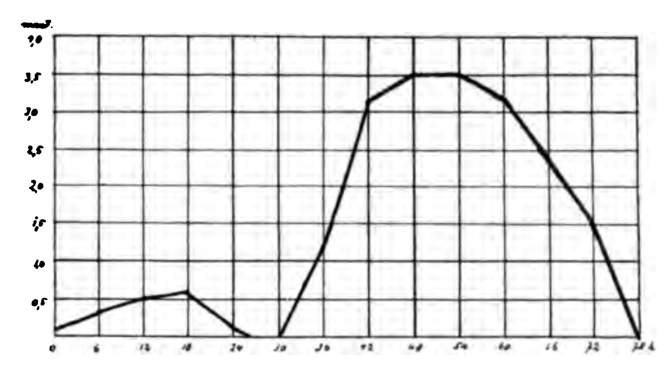


Fig. 61. Phycomyces nitens.
Kurve der Wachstumsgeschwindigkeit während der Entwicklung des Sporangiumträgers, die große Periode des Wachstums zeigend, unterbrochen zur Zeit der Bildung des Sporangiums (in der 26. bis 30. Stunde). Die Ordinaten geben den stündlichen Zuwachs in Millimetern an. — Nach ERRERA und PFEFFER.

Die **Wachstumsgeschwindigkeit** ist, auch unter gleichen äußeren Bedingungen, bei den verschiedenen Arten der hierher gehörigen Organismen natürlich verschieden. Schnell wachsende Bakterien vermögen unter günstigen Verhältnissen bereits nach 20—30 Minuten ihre Länge und, da bei ihnen Wachstum und Zellteilung zusammenfallen, auch ihre Anzahl zu verdoppeln. Beispiele dafür geben unter anderen H. BUCHNER und NÄGELI (1), BREFELD (2), A. KOCH (1), MARSHALL WARD (4). Unter optimalen Bedingungen würde demnach ein Stäbchen des *Bacillus subtilis*, das in einer halben Stunde sich verdoppelt, in 24 Stunden über 281 Trillionen Nachkommen haben können, die nahezu 3000 Zentnern Trockensubstanz entsprechen würden. Glücklicherweise ist dafür gesorgt, daß eine derartige Vermehrung der Bakterien trotz ihrer alle bei höheren Pflanzen bekannten Verhältnisse übersteigenden Wachstumsenergie in

Wirklichkeit nicht statthat. Wie insbesondere GOTSCHLICH und WEIGAND (1), allerdings für einen pathogenen Organismus, nämlich die *Microspira comma*, gezeigt haben, tritt bei optimalen Wachstumsbedingungen in den Zuchten nach kurzer Zeit nicht nur ein Stillstand des Wachs-5 tums, sondern sogar ein rapides Absterben der großen Mehrzahl der Individuen ein, hauptsächlich durch die Erschöpfung des Nährbodens verursacht. Noch intensiver ist übrigens das Wachstum der Schimmelpilze. Setzt man die mittlere Wachstumsgeschwindigkeit des Heubacillus (*B. subtilis*) gleich 1, so beträgt sie nach BUCHNER (1) für die wachsende 10 Region (Spitze) der Mycelfäden von *Botrytis* 7,7, von *Rhizopus nigricans* ca. 15. Das sind gegenüber der Wachstumsintensität selbst der schnellst wachsenden einheimischen höheren Pflanzen (Spargelsprosse 0,083) allerdings außerordentlich hohe Werte.

Außer den in der großen Periode des Wachstums sich zeigenden 15 autonomen Schwankungen der Wachstumsintensität treten, ebenso wie bei höheren Pflanzen, auch bei den hier in Betracht kommenden Organismen auch in kürzeren Intervallen antonome Schwankungen (Oscillationen) des Wachstums auf. Solche sind von ERRERA (1) und REINHARDT (1) an Eumyceten nachgewiesen worden und fehlen nach MARSHALL WARD (4) 20 auch dem *Bacillus ramosus* nicht. Infolge des Bestehens solcher Oscillationen des Wachstums rückt die Spitze der wachsenden Organe abwechselnd langsamer und schneller vor und wird, wo gleichzeitig eine autonome Krümmung besteht, in einer mehr oder weniger komplizierten Raumkurve umhergeführt: die Spitze cirkumnutiert. Nachgewiesen ist 25 Cirkumnutation insbesondere bei Mucorineen (DARWIN [1], FRITSCHE [1], WORTMANN [1]). Ein vorzügliches Beispiel autonomer Cirkumnutation bieten die von WORTMANN studierten Stolonen von *Rhizopus nigricans*.

Neben der Wachstumsbewegung besteht bei einer großen Anzahl von Spaltpilzen auch noch das Vermögen der spontanen Ortsbewegung. 30 Bei den Eumyceten kommt nur gewissen Phycomyceten, so z. B. dem im 14. und 15. Kapitel des III. Bandes zu betrachtenden *Leptomitus lacteus*, der Besitz von frei beweglichen Zuständen (Schwärmsporen) zu. Den lokomotorischen Bewegungen ist das übernächste (18.) Kapitel gewidmet.

35 Der Gang des Wachstums wird von den Außenbedingungen in der verschiedensten Weise beeinflußt. Zunächst findet Wachstum nur statt, wenn gewisse Bedingungen erfüllt sind. Zu diesen gehört insbesondere die Anwesenheit oder die Gewinnung von Bau- und Betriebsstoffen (Möglichkeit der Ernährung), ferner eine gewisse Temperatur, die Gegen-40 wart von Wasser und von Sauerstoff usw. Man bezeichnet diese Bedingungen, welche notwendig erfüllt sein müssen, damit überhaupt Wachstum möglich ist, als die **formalen Bedingungen des Wachstums.** Neben ihnen wirken auch accessorische Bedingungen auf das Wachstum ein, z. B. die Schwerkraft. Die einen wie die anderen wirken teils 45 energetisch, indem sie Betriebsenergie und Baumaterial liefern, teils auslösend, als Reize, und zwar entweder als beschleunigende (resp. hemmende) Reize oder als formative, die Gestaltungstätigkeit in andere Bahnen lenkende (morphogene) Reize.

Für jede formale Bedingung ist Wachstum nur zwischen einem 50 oberen und einem unteren Grenzwert, dem Maximum und dem Minimum, möglich und wird am intensivsten bei einem zwischen beiden liegenden Ausmaß, dem Optimum, verlaufen. Das gilt für die Temperatur, die Konzentration der Nährflüssigkeit usw., und es ist selbstverständlich,

daß die drei Kardinalpunkte für verschiedene Organismen auch verschieden liegen. Letzteres gilt sogar für verschiedene Organe und verschiedene Funktionen desselben Organismus. So liegt nach BACHMANN (2) das Temperaturmaximum für die Mycelbildung bei der auf Pferdemist gefundenen *Mortierella van Tieghemi* bei 24—25°, für die Sporangien- 5 bildung bereits bei 20°. Bei *Saccharomyces cerevisiae I* fand HANSEN (2) die Temperaturgrenzen für das vegetative Wachstum bei 0 und 40°, für die Sporenbildung bei 11 und 37° C. BACHMANN (1) konnte bei *Thamnidium elegans* bei Züchtung auf Malzextrakt die Sporenbildung durch starke Konzentration vollständig unterdrücken. Nach KLEBS (3) 10 unterscheiden sich Wachstum und Fortpflanzung bei den Pilzen unter anderem überhaupt dadurch, daß die Wirkungsgrenzen der allgemeinen Lebensbedingungen für die Fortpflanzung enger gezogen sind als für das Wachstum; deshalb kann Wachstum noch stattfinden, wenn die Fortpflanzung durch eine zu starke oder zu schwache Wirkung einer der 15 Bedingungen gehemmt ist.

§ 96. Einfluß der Turgescenz und des Wassergehaltes.

Wie die Zellen aller Pflanzen, so bilden auch die der Gärungsorganismen ein osmotisches System, in welchem normalerweise Turgescenz herrscht, d. h. der plasmatische Wandbelag durch den osmotischen Druck 20 der eingeschlossenen Flüssigkeit der Zellwand angepreßt ist. Der Ueberdruck, der innerhalb der Zelle herrscht, ist nicht nur bei verschiedenen Organismen, sondern auch bei demselben Organismus je nach äußeren und inneren Verhältnissen äußerst wechselnd. Soweit wir wissen, ist Wachstum nur möglich in turgescenten Zellen und Organismen. 25

So hört das Wachstum, wenigstens soweit es sich in der Flächenvergrößerung der Membran äußert, auf, wenn durch Wassermangel die Turgescenz aufgehoben wird. Dabei braucht aber die Lebensfähigkeit keineswegs zu leiden. Einen gewissen Wasserverlust vermögen vielmehr wohl alle Gärungsorganismen ohne Schaden für ihre Wachstumsfähigkeit 30 zu ertragen. Wie selbstverständlich, verhalten sich verschiedene Gärungsorganismen sowie verschiedene Organe ein und desselben Organismus gegenüber Wassermangel sehr verschieden. Sporen sind im allgemeinen widerstandsfähiger als vegetative Zustände und können vielfach vollständiges **Austrocknen** im Exsiccator jahrelang ertragen. So werden 35 nach A. KOCH (1) die vegetativen Stäbchen des *Bacillus carotarum* A. KOCH durch Austrocknen sofort getötet, während die Sporen lebend bleiben. Besonders empfindlich scheinen ferner Spirillen zu sein. Nach KURTH (1) widerstehen die Stäbchen des *Bacterium Zopfii* KURTH dem Austrocknen nur 2—5 Tage, während die Kokkenformen desselben 40 Bakteriums das Austrocknen 17—26 Tage aushalten. Der vegetative Körper der meisten Schimmelpilze wird durch Austrocknen sofort getötet, während die Sporen meist erst nach längerer, je nach der Art verschieden langer Dauer erliegen. Auch die Hefe ist in dieser Hinsicht wenig empfindlich. Näheres über den Einfluß des Austrocknens findet 45 man in den einschlägigen speziellen Kapiteln (so z. B. auf S. 117 und 201 des I. Bandes, im 6. Kapitel des IV. Bandes, im 5. Kapitel des V. Bandes) dieses Handbuches, so wie in den zusammenfassenden Werken von FLÜGGE (1), PFEFFER (1) usw., wo auch die Literatur angeführt ist.

Besonders empfindlich gegen Austrocknen sind auch die ersten Keimungsstadien der selbst sehr austrocknungsfähigen Sporen von *Mucor*, *Botrytis* und anderen zufolge Schröder (1), Nordhausen (1) und Duggar (1).

Außer durch Verdunstung kann den Gärungsorganismen das zum Wachstum nötige Wasser auch durch Einbringen in konzentriertere, hyperosmotische Lösungen entzogen werden, welche den Turgor aufzuheben und den plasmatischen Wandbelag von der Zellhaut abzulösen, **Plasmolyse** hervorzurufen vermögen. Allerdings tritt nicht in allen Fällen Plasmolyse in hyperosmotischen Lösungen ein, nämlich dann nicht, wenn das Plasma des betreffenden Organismus für den in der Außenflüssigkeit gelösten Körper leicht durchlässig, vollkommen permeabel ist. Das ist z. B. bei *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. mesentericus*, *B. proteus*, *B. lactis acidi* gegenüber anorganischen Salzen, Zucker usw. der Fall. Impermeabel für dieselben Stoffe, daher leicht plasmolysierbar sind dagegen die Spirillen, *Bacillus coli communis* und andere sowie die Fadenpilze. Natürlich gibt es zwischen vollkommener Permeabilität und absoluter Undurchlässigkeit alle Zwischenstufen, und wie die Höhe des Turgors selbst, so ist auch der Grad der Permeabilität nicht nur bei verschiedenen Organismen, sondern auch bei ein und derselben Art je nach den äußeren und inneren Bedingungen sehr wechselnd. Eingehende Untersuchungen über diese Verhältnisse, insbesondere bei Bakterien, verdanken wir A. Fischer (1, 2, 3), der auch zuerst den Nachweis führte, daß Bakterien mit Eigenbewegung im plasmolysierten Zustande ihre Bewegungsfähigkeit behalten.

Außer der Aufnahme des plasmolysierenden Körpers in die Zelle steht den plasmolysierten Organismen als weiteres Mittel zur Erhöhung des osmotischen Innendruckes und damit zur Wiederherstellung der Turgescenz die Eigenproduktion osmotisch wirksamer Körper, das Vermögen der selbsttätigen **Turgorregulation,** zur Verfügung. Beide, Permeabilität und selbsttätige Turgorregulation, vermöge welcher natürlich auch osmotisch wirksame Stoffe zerstört oder in osmotisch unwirksame übergeführt werden können, wirken voraussichtlich zusammen, wenn die bei Störung der Turgescenzverhältnisse durch Eintragen in konzentriertere oder in verdünntere Lösungen, also durch Herabsetzung oder plötzliche Erhöhung des Turgors, eingetretene Wachstumsstörung (Sistierung oder Verlangsamung) nach einiger Zeit wieder zurückgeht und normalem Wachstumsgange Platz macht.

Manche Organismen sind für plötzliche Herabsetzung bzw. Erhöhung des Turgors sehr empfindlich, während sie allmähliche Veränderungen der Konzentrationsverhältnisse wohl vertragen, wie dies insbesondere Massart (1) und A. Fischer (2) an Bakterien und Eschenhagen (1) an Eumyceten gezeigt haben. Bei plötzlicher Erhöhung der Turgescenz durch Einbringen in eine stark hyposmotische Umgebung tritt unter Umständen eine Zersprengung der Zellhaut und damit Zerstörung des Organismus ein (Eschenhagen, Fischer). An pathogenen Bakterien hat Ficker (1) ähnliche Störungen nachgewiesen, welche die meist übliche Zählmethode mit Hilfe von Verdünnungen in einem sehr wenig Vertrauen erweckenden Lichte erscheinen lassen. Bei Bakterien kann zufolge A. Fischer (2, 3) ein Austritt von Plasma auch beim Einbringen in konzentriertere Lösung zustande kommen. Während Fischer diese Erscheinung früher als Folge des durch die Zunahme des Turgors verursachten Platzens der Zellhaut zu deuten versuchte, erklärt er sie jetzt

als besonderen Fall der Plasmoptyse (s. S. 63), welche überhaupt bei ungünstigen Daseinsbedingungen eintreten kann (s. *Fig. 62*).

Es kann nicht wunder nehmen, daß verschiedene Organismen auch verschiedene Anforderungen an **die Höhe des Wassergehalts** des Nährbodens stellen. Zur Keimung ist wohl immer tropfbar flüssiges Wasser notwendig. Allerdings gibt LESAGE (1, 2, 3) an, daß die Konidien von *Penicillium glaucum* in einer Atmosphäre mit einem relativen Feuchtigkeitsgehalt von mindestens 82 Proz. keimen. Es muß indes zunächst dahingestellt bleiben, ob nicht erst Taubildung oder Kondensierung von Wasser in der zum Ankleben der Sporen benutzten Gelatine die Keimung in seinen Versuchen ermöglichten. Denkbar, wenn auch nicht wahrscheinlich, wäre allerdings auch, daß Sporen und überhaupt Teile von Pilzen und anderen Organismen vermöge eines Gehalts an stark hygroskopisch wirksamen Substanzen selbst Wasser aus feuchter Atmosphäre an sich kondensierten und sich so selbst das nötige Wasser für ihr Wachstum verschafften.

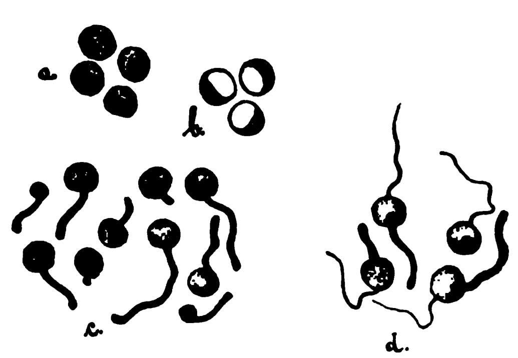


Fig. 62. Plasmoptyse der Cholera-Vibrionen in einer 3—4 Tage alten Agarzucht (Peptonzuckeragar mit 0,5 Proz. Kochsalz) bei 30°. *a* Einzelne Plasmoptysekugeln mit stark färbbaren Körnchen, mit Gentianaviolett gefärbt. *b* Lebende, noch sich bewegende Kugeln mit 2 Proz. Kochsalz plasmolysiert, der Inhalt halbmondförmig kontrahiert (schwarz). *c* Verschiedene Stadien der Plasmoptyse, das Hervorquellen des Inhalts aus den Vibrionen zeigend; Färbung mit Gentianaviolett. *d* Geißelfärbung nach LOEFFLER, Geißeln an den Kugeln. — Vergr. 1500. Aus A. FISCHER, Vorlesungen, 2. Aufl.

Wie KLEBS (1) gezeigt hat, ist der Wassergehalt des Protoplasmas überhaupt insofern von wesentlichem Einfluß auf das Zustandekommen der Bildung von Konidienträgern des *Aspergillus repens*, als nur transpirierende Hyphen zu Konidienträgern werden können. Unter Wasser und in absolut feuchtem Raume werden auch auf den an und für sich günstigsten Substraten Konidienträger nicht gebildet. Dasselbe ist nach KLEBS (2) der Fall bei *Sporodinia grandis*, voraussichtlich auch bei *Penicillium* und anderen. Bei Unterdrückung der Transpiration entstehen bei *Sporodinia* nicht Sporangien sondern Zygosporen, vorausgesetzt natürlich, daß das Substrat überhaupt zur Zygosporenbildung tauglich ist. Allerdings ist weder bei *Sporodinia* noch voraussichtlich bei den anderen Pilzen die Transpiration die alleinige spezielle Bedingung der Entstehung von Fruchtträgern, sondern nur unter natürlichen Bedingungen eine ganz wesentliche. Außer ihr hat KLEBS (4) bereits die von BREFELD (4) und FALCK (1) in den Vordergrund gestellte Bedeutung der Konzentration der Nährstoffe resp. des Wassergehaltes des Substrates und der chemischen Beschaffenheit desselben erkannt und seine Ansicht bei neueren Versuchen mit Teilen desselben Mycels, die unter verschiedene Transpirationsbedingungen gebracht wurden, bestätigt gefunden. Uebrigens scheint FALCK hauptsächlich mit einer anderen Rasse von *Sporodinia grandis* gearbeitet zu haben, die sich möglicherweise etwas verschieden von der von KLEBS benutzten Rasse verhielt.

Die Bedeutung der Transpiration für die Bildung der Fortpflanzungsorgane bei *Aspergillus* und anderen Pilzen unter normalen Verhältnissen wurde auch nicht durch den von Čelakovský (1) geführten Nachweis widerlegt, daß die Konidienträger verschiedener Pilze auch gebildet 5 werden, wenn das Nährsubstrat mit Paraffinöl oder fetten Oelen überdeckt wird, so daß die Konidienträger in dieses hineinwachsen müssen. Čelakovský schließt daraus, daß vielleicht der Bewegungsrichtung des Wassers in den Hyphen die Rolle des Reizes zur Bildung von Konidien zukommt: In feuchtem Substrat wird Wasser allseitig von den Hyphen 10 aufgenommen und bewegt sich transversal, während in den in Luft oder Oel verlaufenden Hyphen das Wasser nur longitudinal geleitet wird. Bei *Mortierella van Tieghemi* fand Bachmann (2) Sporangienbildung auch in völlig dampfgesättigter Luft, ein Beweis, daß auch relativ nahe verwandte Formen sich verschieden verhalten können.

15 § 97. Einfluß der Temperatur auf das Wachstum der Gärungsorganismen.

Der bei den höheren Pflanzen allgemein bekannte Einfluß der Temperatur auf das Wachstum besteht auch bei den Gärungsorganismen in gleicher Weise. Damit Wachstum stattfindet, muß ein Temperatur- 20 minimum verwirklicht sein. Bei einem Optimum ist das Wachstum am energischsten, um von da an bei steigender Temperatur wieder an Intensität abzunehmen und nach Überschreitung des Temperaturmaximums gleich Null zu werden, aufzuhören. Die Lage von Minimum, Optimum und Maximum der Temperatur für verschiedene Organismen ist in nach- 25 stehender, größtenteils Pfeffer's Handbuch entnommener Tabelle zu ersehen:

Art	Minimum °C	Optimum °C	Maximum °C	Autor
Hefen (*Saccharomyces sp.*)	0—6	28—34	34—40	Pedersen (1), Hansen
Penicillium glaucum	1,5	25—27	31—36	Thiele (1)
Mucor racemosus	4	20—25	33	Klebs (1)
Eurotium repens	7	25 - 30	38	„
Aspergillus niger	7—10	33—37	40—43	Thiele (1)
Bacillus subtilis	6	ca. 30	50	Brefeld (2), Schreiber (1)
Essigbakterien	unter 8	18—33	30—36	Henneberg (1)
Bacillus ramosus	8	25—28	38	M. Ward (4)
Bacterium Ludwigii Karl.	50	55—57	80	Karliński (1)

Die Temperaturgrenzen sind indessen nicht nur für verschiedene Formen und Arten verschieden, sondern auch für verschiedene Organe und Funktionen desselben Organismus. Besonders genau sind diese Ver- 30 hältnisse von Hansen und anderen für die Alkoholhefen untersucht, bei denen sie zur Charakterisierung der Arten und Rassen verwendet werden. Beispielsweise seien hier nach Will (1) die Kardinalpunkte der Temperatur für verschiedene Funktionen einiger Unterhefen (Stamm 2, 6, 7 und 93) mitgeteilt:

	Stamm 2	Stamm 6	Stamm 93	Stamm 7
Grenzen der Sporenbildung	31—11° C	31—11° C	30—10° C	30—13° C
Optimum der Sporenbildung	25—26° C	28° C	28° C	25—26° C
Grenzen der Hautbildung	28—31 u. 7—10°	25—31 u 7—10°	30—31 u. 4—7°	25—28 u. 4—7° C

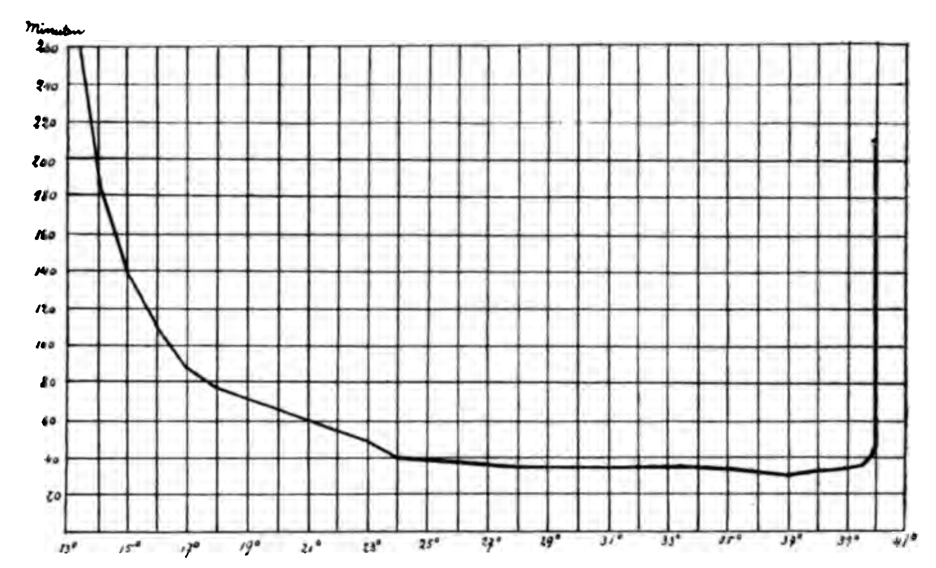


Fig. 63. Abhängigkeit des Wachstums von *Bacillus ramosus* von der Temperatur. Die Ordinaten geben die Zeit in Minuten an, welche zur Verdoppelung der ursprünglichen Zell- oder Fadenlänge bei der entsprechenden Temperatur nötig ist. Nach M. WARD und DUCLAUX.

Nach SCHREIBER (1) liegt bei *Bacillus subtilis* und *B. tumescens* die untere Temperaturgrenze für das Wachstum bei 8 resp. 10°, für die Sporenbildung bei 10 resp. 11°. Nach WIESNER (1) beansprucht die Keimung von *Penicillium*-Sporen einen geringeren Wärmegrad als die weitere Entwicklung der Keimpflanze.

Indessen sind die Temperaturgrenzen selbst nicht absolut konstant, sondern in gewissem Grade von den äußeren Verhältnissen abhängig. So fand THIELE (1) die obere Temperaturgrenze für *Penicillium glaucum* bei Ernährung mit Zucker bei 31° C, bei Ernährung mit Ameisensäure oder Glycerin bei 35 resp. 36° C, für *Aspergillus niger* auf Zucker- oder Glycerinlösung bei 43°, mit Ameisensäure ernährt bei 40° C. Mit zunehmender Konzentration des Traubenzuckers von 4 auf 50 resp. 55 Proz. tritt eine Verschiebung des Temperaturmaximums um 3—4° C nach oben ein. Ebenso können auch andere Umstände auf die Temperaturgrenze des Wachstums einwirken: Nach BREFELD (1) wird der Hut des gemeinen Mistpilzes *Coprinus stercorarius* im Lichte schon bei 12°, im Dunkeln aber erst bei 15° C gebildet, und ferner wird bei manchen der später zu besprechenden thermophilen Bakterien nach L. RABINOWITSCH (1) die untere Temperaturgrenze des Wachstums durch Sauerstoffzutritt ganz wesentlich nach oben (von 34—44° auf 50° C) verschoben.

Durch Akkommodation können ebenfalls die Kardinalpunkte der

Temperatur etwas verschoben werden. So konnte DIEUDONNÉ (3, 4) durch wiederholte Ueberimpfung und Züchtung unter entsprechenden Bedingungen das Temperaturminimum eines *Bacillus anthracis* von 12—14° auf 10° herabdrücken, das Temperaturmaximum des *Bacillus fluorescens* 5 von 35 und das des Bacillus der roten Milch von 37 auf 41,5° C erhöhen, während TSIKLINSKY (1) das Temperaturmaximum des *Bacillus subtilis* im Lauf von 30 Ueberimpfungen von 50 auf 58° C bringen konnte.

Erwähnt sei auch hier, daß verschiedene Forscher durch lange fortgesetzte Kultur bei hoher, der oberen Grenze der Sporenbildung naher 10 Temperatur asporogene Rassen zu erzielen vermochten. Das gelang HANSEN (3, 4, 5, 6) und seinen Schülern KLÖCKER und SCHIÖNNING (1) bei verschiedenen Hefen, MIGULA (1) bei dem *Bacillus ramosus*. Derselbe Effekt ist übrigens vielfach auch durch Kultur unter anderen ungünstigen Einflüssen (Zusatz geringer Giftmengen u. dgl.) erzielt worden, 15 ebenso wie der Verlust der Virulenz bei pathogenen Bakterien, des Farbstoffbildungsvermögens bei chromogenen Bakterien u. dgl.; vgl. S. 110 u. 367.

Während die Ueberschreitung des Temperaturmaximums nach oben die Lebensfähigkeit des Organismus mehr oder weniger schädigt, ist die Unterschreitung des Temperaturminimums im allgemeinen ohne dauernde 20 schädigende Einwirkung. Die Sporen und das Mycel von *Mucor mucedo* werden nach CHODAT (1) selbst durch eine Kälte von — 110° C nicht getötet, während allerdings das Mycel anderer Schimmelpilze relativ leicht erfriert, und nur die Sporen sehr resistent sind. Nach MOLISCH (1) gefriert die Zellflüssigkeit in den Fruchtträgern von *Phycomyces nitens* 25 bei Abkühlung auf — 17° C und wird dabei wohl sicher getötet. Hefe wurde in Versuchen SCHUMACHER's (1) selbst bei Abkühlung auf — 113,75° C nicht vollständig getötet, wenn auch ein Teil der Zellen abgestorben war. Das Ergebnis wurde durch MELSENS (1) bestätigt, der eine Verlangsamung der Gärwirkung durch längeren Aufenthalt bei — 91° C 30 fand. Nach PICTET und YUNG (1) erwies sich Hefe indessen als vollständig abgetötet, als sie 108 Stunden bei — 70° und dann noch 20 Stunden bei — 130° C gehalten war. Noch resistenter sind die Bakterien, welche selbst die niedersten erreichbaren Temperaturen ohne Schaden überdauern, falls dieselben nicht zu lange andauern. MAC-35 FADYEN (1) fand, daß Gefrierenlassen von Bakterienkulturen bei — 172 bis 190° C, 20 Stunden lang, weder das Leben noch die Eigenschaften und Funktion der Bakterien schwächte, und daß zahlreiche Bakterien und Schimmelpilzsporen, welche mit der Luft, in der sie suspendiert waren, auf — 210° C abgekühlt wurden, diese Temperatur ohne Schaden über-40 standen. In weiteren Versuchen fanden MACFADYEN und ROWLAND (1) die Temperatur der flüssigen Luft selbst bei einwöchentlicher Dauer der Einwirkung ohne Einfluß oder von äußerst geringem Einfluß auf die Wachstumsfähigkeit von Bakterien, Schimmelpilzsporen sowie einer Hefe. Ja, selbst die Temperatur des flüssigen Wasserstoffs (— 252° C) fanden 45 die beiden Forscher bei zehnstündiger Wirkung ohne Einfluß auf die Lebensfähigkeit der Bakterien.

Viel energischer wirkt die Erhöhung der Temperatur über das Maximum. Sie scheint stets schädlich zu wirken. Ueberschreitet die Temperaturerhöhung das Maximum nur wenig, so bedarf es allerdings 50 langer Zeit, bis die Schädigung eine merkbare wird. Daß eine solche eintritt, folgt indessen zweifellos aus den Untersuchungen HILBRIG's (1). Als dieser ein *Penicillium*, dessen Temperaturmaximum bei 34° C lag, bei 35° C in einer Nährlösung hielt, war das Mycel nach 31 Tagen tot,

während die ungekeimten Sporen erst nach 54 Tagen abgestorben waren. Aehnlich verhielten sich auch *Cladosporium herbarum* und *Rhizopus nigricans*. Daß mit der Dauer des Aufenthalts bei der supramaximalen Temperatur die Schädigung zunimmt, folgt aus der Beobachtung, daß nach zweitägigem Aufenthalt bei 35° die dann bei 22° gehaltenen Sporen bereits 5 nach 2 Tagen, nach 51-tägigem Aufenthalt aber erst nach 11 Tagen keimten. Ein Wasserbakterium, dessen obere Temperaturgrenze für Wachstum bei ca. 34—35° lag, fand Hilbrig schon nach 5-tägiger Einwirkung von 35° C abgetötet. Auf der schwächenden und schädigenden Wirkung supramaximaler, dem Maximum naher Temperaturen beruht 10 auch eine Methode zur Abschwächung der Virulenz bei pathogenen Bakterien, die Pasteur zuerst bei Milzbrandbazillen anwendete. Pasteur benutzte die durch Kultur bei 42—43° C erhaltenen abgeschwächten Kulturen zu Schutzimpfungen, um die Tiere gegen vollvirulenten Milzbrand zu immunisieren. Größere Ueberschreitungen des Temperatur- 15 maximums wirken natürlich weit schädlicher und töten schon in relativ kürzerer Zeit. Daß individuelle sowie artliche Unterschiede bestehen, ist selbstverständlich. Erhöht wird die Widerstandsfähigkeit insbesondere durch Austrocknen. Besonders widerstandsfähig gegen Erhitzung sowohl in feuchtem wie in trockenem Zustande sind die Sporen der Bakterien, 20 wie bereits durch Cohn (1) und Brefeld (2) erkannt und seither vielfach bestätigt worden ist. Nach Cohn vertragen die Sporen des Heubacillus in Wasser zum Teil eine viertägige Erhitzung auf 80° und erliegen erst einstündiger Einwirkung der Siedetemperatur (100°) des Wassers. Die Sporen gewisser Erdbakterien scheinen noch weit resistenter zu sein. Im 25 trockenen Zustande vertragen manche Bakteriensporen sogar eine Erhitzung auf 140° C kurze Zeit. Nach R. Koch und Wolffhügel (1) werden die Sporen gewisser Bakterien erst durch dreistündiges Erhitzen in Luft auf 140° getötet. Sicher wirkt indes einstündige Einwirkung von 150° C. In der Konservenindustrie, bei der Pasteurisierung von 30 Wein, Bier, Milch usw. sowie bei der Sterilisierung der Apparate und Nährsubstrate in den bakteriologischen Laboratorien spielen diese Verhältnisse eine große Rolle, und es wird daher in den einschlägigen Kapiteln auf die Resistenz der Gärungsorganismen gegen Wärme zurückzukommen sein. 35

Von großem Einfluß auf die Wirkung einer supramaximalen Erhitzung ist die chemische Zusammensetzung des Mediums, in dem die Erhitzung stattfindet. So erleichtert sauere Reaktion desselben die vollständige Sterilisierung sehr, und ebenso begünstigt zweifellos der Hopfenzusatz zur Bierwürze die Abtötung der Keime beim Kochen. 40

Wir haben noch kurz zurückzukommen auf zwei in ihrem Verhalten gegenüber der Temperatur besonders interessante Gruppen von Organismen: die Organismen, welche noch bei sehr niederer Temperatur (um 0° C herum) gedeihen, und die bereits im vorhergehenden kurz erwähnten Organismen, welche bei höheren Temperaturen zu wachsen vermögen, 45 die den meisten Organismen verderblich sind. Je nachdem diese Organismen nur bei niederer resp. höherer Temperatur oder auch bei niederer resp. höherer Temperatur gedeihen, spricht man von psychrophilen resp. thermophilen oder psychrotoleranten (glazialen) resp. thermotoleranten Organismen. 50

Psychrophile Gärungsorganismen, die nur bei und in der Nähe von 0° C gedeihen würden, sind nicht bekannt. Dagegen kennt man bereits eine große Zahl psychrotoleranter Bakterien, deren Temperatur-

optimum im allgemeinen auch verhältnismäßig tief liegt. Zuerst wies FORSTER (1) für marine Leuchtbakterien Wachstum bei der Temperatur des schmelzenden Eises (0° C) nach und fand einige Jahre später auch in Wasser und Erde derartige Bakterien, auch nicht leuchtender Arten, sehr verbreitet. Nach seinen Untersuchungen enthielt

Handelsmilch	bis	zu	1 000	Keimen	psychrotoleranter	Bakterien	im	ccm
Kanalwasser	„	„	2 000	„	„	„	„	ccm
Gartenerde	„	„	14 000	„	„	„	„	g
Straßenschmutz			unzählbare	Mengen	„	„	„	g

Er bestätigte damit Untersuchungsergebnisse B. FISCHER's (1) aus dem Jahre 1888. Auch HAVEMANN (1) kam zu demselben Resultat und fand, daß bei Eisschranktemperatur, also bei höchstens 7° C, sich bereits eine große Anzahl von verschiedenen Gärungsorganismen, Pilze, Bakterien, Hefen, entwickeln. Von der Entwicklungsfähigkeit von Hefen bei niederer Temperatur wird ja bekanntlich in der untergärigen Brauerei weitgehende Anwendung gemacht. Eine Reihe weiterer psychrotoleranter Mikroorganismen fand SCHMIDT-NIELSEN (1) im Jahre 1902 auf, darunter auch eine Torula, einen Stamm des *Saccharomyces Pastorianus I* HANSEN, der allerdings für längere Zeit im Eisschrank kultiviert war, und verschiedene *Actinomyces*-Arten (Fadenpilze?). Neuerdings isolierte endlich noch M. MÜLLER (1) aus Hackfleisch, Fisch, Milch, Mehl, Gemüse, Erde und Luft eine große Anzahl (36) Formen, welche bei 0° C, im Eiskalorimeter, wenn auch natürlich langsamer als bei ihrer bei und über 20° C liegenden Optimaltemperatur, wuchsen und bei dieser Temperatur auch Fäulnisprozesse hervorzurufen vermochten.

Von noch größerem Interesse ist jene Gruppe von Organismen, welche bei hoher Temperatur, 50° C und darüber, noch die Bedingungen ihres Gedeihens finden. Bei dieser ebenfalls sehr großen Gruppe ist sowohl Thermotoleranz wie Thermophilie vertreten; freilich ist bei den bisherigen Untersuchungen dieser Unterschied nicht immer berücksichtigt worden, so daß nicht immer mit Sicherheit entschieden werden kann, ob der beschriebene Organismus zu den thermophilen oder zu den thermotoleranten gehört. Den ersten hierher gehörigen, übrigens sicher thermophilen Organismus, ein aerobes Stäbchenbakterium, fand MIQUEL (1) i. J. 1888 in Kloakenflüssigkeit und im Darminhalte von Menschen und Säugetieren und beschrieb ihn als *Bacillus thermophilus*, weil er sich bei 70° C noch lebhaft vermehrte. Die Kardinalpunkte der Temperatur für diesen übrigens unbeweglichen Organismus sind 42° und 72°. GLOBIG (1) beschrieb noch im selben Jahre eine größere Anzahl (28) von hierher gehörigen Bakterien aus Gartenerde, die sämtlich bei 60° noch üppig wuchsen. Neben einer Anzahl echter Thermophilen befand sich unter ihnen auch ein thermotolerantes Bakterium, das ebensogut bei 15° C wie bei 68° wuchs. L. RABINOWITSCH (1) wies dann die weite Verbreitung solcher Formen in Schnee, Fäces aller Art, Dünger, Getreide, Milch nach. Alle diese bei 50—70° C die besten Bedingungen ihres Gedeihens findenden Bakterienarten bilden Endosporen. In heißen Quellen wiesen KARLIŃSKI (1), TEICH (1) und TSIKLINSKY (1) das Vorkommen thermophiler Bakterien nach. Weitere Formen beschrieben LAXA (1) aus eingedickten Syrupen der Zuckerfabrikation, OPRESCU (1) aus Erde, Käse, Wasser usw., MICHAELIS (1) aus Brunnenwasser, SAMES (1) aus Erde, Luft, Lakmustinktur, Milch und Vaginalschleim, SCHARDINGER (1) aus Speisen, welche dadurch bei längerer warmer Aufbewahrung verderben können. Einen thermophilen Fadenpilz, den er allerdings als „*Cladothrix*“ be-

schreibt, und dessen Temperaturgrenzen bei 35 und 65° C mit einem Optimum bei 55° liegen, fand KEDZIOR (1) in Kloaken- und Spreewasser. Sicher fand TSIKLINSKY (1) einen thermophilen echten Fadenpilz in Erde, der zwischen 42 und 60° C wächst und auf Brot große watteartige Rasen bildet. Aehnliche Schimmelrasen sah ich auf angefeuchtetem Weizen bei 56° C sich entwickeln. Auch zwei thermophile *Actinomyces*-Arten, wahrscheinlich auch echte Fadenpilze, wurden bei den Untersuchungen TSIKLINSKY's aus Erde erhalten. Die eine davon, die TSIKLINSKY als *Thermoactinomyces vulgaris* bezeichnet, ist in Erde, Mist, Stroh, Heu, auf Getreide und Kartoffeln sehr verbreitet. Ihre Grenztemperaturen liegen bei 48 und 68° C, ihr Temperaturoptimum bei 57°. Die Sporen zeichnen sich durch große Resistenz gegen feuchte Hitze aus; sie überstehen eine 20 Minuten dauernde Einwirkung von 100° im Dampfkochtopf. Eine thermotolerante *Streptothrix*, zweifellos ebenfalls einen echten Fadenpilz, mit dem Temperaturoptimum von 55° und den Grenztemperaturen 22° und 62° fand SAMES (1) in Milch. Aus alledem folgt die weite Verbreitung von Keimen der thermophilen und thermotoleranten Gruppe von Gärungsorganismen, die nicht nur in heißen Quellen und im Verdauungstraktus der Warmblüter, sondern auch an anderen Orten, z. B. im Boden, der von der Sonne bestrahlt und erwärmt ist, im Stallmist und anderen sich selbst erwärmenden Anhäufungen organischer Stoffe, die für ihr Gedeihen nötigen oder doch günstigen höheren Temperaturen finden werden.

Nachgetragen sei noch, daß SCHILLINGER (1) zuerst die Thermotoleranz von der Thermophilie geschieden hat. Freilich irrte er insofern, als er alle bisher als thermophil beschriebenen Organismen als nur thermotolerant bezeichnen wollte, ähnlich wie TSIKLINSKY (1), die annahm, daß die thermophilen Bakterien nur unter dem Einfluß äußerer Verhältnisse vorübergehend oder dauernd höheren Temperaturen akkommodierte Rassen gewöhnlicher Bakterien seien.

§ 98. Der Einfluß des Lichtes.

Wenn auch nicht in gleichem Grade wie bei den grünen Pflanzen, so greift doch auch bei den Gärungsorganismen das für ihr Leben an und für sich nicht notwendige Licht tief in die Wachstums- und Gestaltungsvorgänge ein. Die weitaus meisten Gärungsorganismen scheinen allerdings ihren gesamten Entwicklungsgang bei völligem Lichtausschluß durchlaufen, jedenfalls aber ohne Licht üppig gedeihen und wachsen zu können.

Bei Laien am allgemeinsten bekannt ist die schädigende Wirkung des Lichtes gegenüber den Bakterien. Die meisten Untersuchungen darüber gehen vom hygienischen und vom medizinischen Gesichtspunkte aus, kommen daher hier wenig in Betracht. Eine ältere Zusammenstellung der Literatur, bis zum Jahre 1889 reichend, findet sich bei J. RAUM (1) und wird ergänzt durch spätere Veröffentlichungen von JANOWSKI (1) und TH. GEISLER (1) aus den Jahren 1890 und 1892. Auch DIEUDONNÉ (2) gab eine Zusammenstellung der Literatur, über die auch GOTSCHLICH in FLÜGGE's Handbuch der Mikroorganismen, 3. Aufl., Bd. I, S. 441 u. f. bis zum Jahre 1896 orientiert. Eine neue sehr vollständige Darstellung verdanken wir S. BANG (1), der über 100 Schriften über Lichtwirkung auf niedere Organismen aufzählt.

Der schädigende Einfluß des Lichtes auf das Bakterienwachstum wurde zuerst von DOWNES und BLUNT (1, 2) erkannt. Sie fanden Ver-

langsamung im diffusen, vollständige Hemmung im direkten Sonnenlichte. Am schädlichsten waren die blauen und violetten, am wenigsten schädlich die roten und orange Strahlen. Die Wärmestrahlen sind unschädlich. DUCLAUX (1) war der erste, der mit Reinkulturen (von *Tyrothrix scaber*) 5 arbeitete. Er zeigte, daß die Intensität der Wirkung des Lichtes abhängig ist von der Natur der Nährlösung, in welcher der Organismus erzogen war: In Milch gewachsene Tyrothrixstäbchen erwiesen sich als resistenter als in Bouillon gezogene. Etwas Aehnliches fand FRANKLAND (1) bei Milzbrandsporen: Bei 18—20° gezogene Milzbrandsporen erwiesen sich 10 als viel resistenter gegenüber der Einwirkung des Lichtes als bei 35 bis 38° C gewachsene, und Kochsalzzusatz begünstigte die keimtötende Wirkung des Lichtes. BANG (1) untersuchte die Wirkung des elektrischen Bogenlichtes auf den *Bacillus prodigiosus*, den er in dünn ausgestrichenen hängenden Tropfen zwischen planparallelen Quarzplatten der Wirkung 15 des Lichtes aussetzte. Die Temperatur wurde dadurch konstant erhalten, daß die untere Quarzplatte stetig von gleichmäßig warmem Wasser bespült wurde, und die Wärmestrahlen der Bogenlampe wurden durch eine zwischen planparallelen Quarzplatten befindliche 25 mm dicke Wasserschicht ausgeschaltet. Unter diesen Verhältnissen und bei einer Tempe- 20 ratur von 30° C wurde von dem Lichte, das ein elektrischer Lichtbogen (Strom von 35 Ampère und 50 Volt) in 28 cm Entfernung ausstrahlte, eine 3 Stunden alte Prodigiosuskultur (in Bouillon) bereits in 1 Minute, eine 10—15 Stunden alte Kultur erst in 3—5 Minuten getötet. Bei 45° trat der Tod einer 3 Stunden alten Kultur schon in 30 Sekunden 25 ein. Mit steigender Temperatur nimmt also die Lichtwirkung zu, mit dem Alter der Kultur dagegen ab. Sporen sind vielfach nicht resistenter als vegetative Zustände. ARLOING (1) fand sogar Milzbrandsporen empfindlicher als die Stäbchen; erstere wurden schon nach 2—3 stündiger, letztere erst nach 26—30-stündiger Insolation getötet.

30 Daß die schädigende Wirkung mit der Intensität der Belichtung steigt, ist selbstverständlich und folgt bereits aus den obenerwähnten ersten Untersuchungen von DOWNES und BLUNT. BUCHNER (3), DIEUDONNÉ (2) und andere haben es bestätigt. Dementsprechend ist die keimtötende Wirkung des direkten Sonnenlichtes wie des diffusen Tages- 35 lichtes zu verschiedenen Jahreszeiten verschieden. Uebereinstimmung herrscht ferner darüber, daß die baktericide Wirkung der verschiedenen Strahlengattungen des weißen Lichtes mit der Brechbarkeit und der Abnahme der Wellenlänge zunimmt, daß die blauen, violetten und ultravioletten Strahlen die bei weitem wirksamsten sind. Das ergeben 40 nicht nur die ersten Versuche von DOWNES und BLUNT, sondern auch die von GEISLER (1), WARD (1, 2, 3), KOTLJAR (1), DIEUDONNÉ (1), BIE (1) und anderen. Die Einwirkung der ultravioletten Strahlen hat STREBEL (1) einer besonderen Untersuchung unterzogen und dieselben sehr wirksam gefunden. Dasselbe bestätigen die Untersuchungen von BARNARD und 45 DE MORGAN (1).

BUCHNER (2), der dem Lichte einen großen, wesentlichen Anteil an der Selbstreinigung der Flüsse zuschreibt, verdanken wir eine außerordentlich instruktive Methode zur Demonstration der keimtötenden Wirkung des Lichtes. Nach BUCHNER gießt man unter reichem Zusatz 50 von Bakterien, z. B. Typhusbazillen, Platten von Fleischsaftagar in Petrischalen, beklebt die Unterseite mit Buchstaben oder Formen aus schwarzem Papier, setzt die Platten in umgekehrter Lage ca. 1—1½ Stunden dem direkten Sonnenlicht oder ca. 5 Stunden dem diffusen

Tageslichte aus und bringt sie endlich in den verdunkelten Kulturraum. Nach einiger Zeit (24 Stunden) werden die auf die Unterseite der Petrischalen geklebten Buchstaben oder Formen abgelöst und es zeigen sich dann diese in dem Agar getreu nachgebildet (s. *Fig. 64*) durch zahl-



Fig. 64. Dicht besäte Plattenkultur von Typhusbazillen auf Agar. Mit Papierbuchstaben beklebt und so 1½ Stunden den Sonnenstrahlen ausgesetzt, dann 24 Stunden im Dunkeln gehalten. Nur an den von den Buchstaben bedeckt gewesenen Stellen ist Entwicklung von dicht gedrängten weißlichen Kolonien eingetreten. — Nat. Größe. Nach H. Buchner.

reiche dicht gelagerte Bakterienkolonien, indem die eingesäten Keime eben nur an den von den Papierformen bedeckten Stellen der tötlichen Einwirkung des Lichtes entgangen sind, und also auch nur hier Kolonien auftreten können.

Während über die Strahlengattungen, welche das Absterben der Bakterienkeime im Lichte hervorrufen, allgemeine Uebereinstimmung der Ansichten herrscht, ist das nicht der Fall hinsichtlich des dabei wirksamen Mechanismus. Daß es sich nicht um Wärmewirkungen handeln kann, geht aus der Art der Versuchsanstellung, wenigstens bei vielen Untersuchern, unzweideutig hervor. Entweder handelt es sich um eine unmittelbare Wirkung des Lichtes auf das Plasma der Bakterien oder um eine mittelbare Schädigung der Bakterien durch Veränderungen, welche das Licht im Nährboden hervorruft. Mit der letzteren Ansicht steht im Einklang, daß bereits Geisler (1) eine 2—3 Stunden belichtete Nährgelatine zur Ernährung von Typhusbazillen weniger geeignet fand, als nicht belichtete von gleicher Zusammensetzung. Auch hat Duclaux (3)

bereits derartige Veränderungen in der RAULIN'schen Nährlösung beobachtet, welche durch Belichtung ungeeignet zur Ernährung von Mikroorganismen wurde. DUCLAUX führt das auf die Entstehung von Ameisensäure aus Weinsäure unter Einwirkung des Lichtes zurück und lieferte den Nachweis, daß solche Mengen von Ameisensäure, wie sie bei spontaner Zersetzung der Weinsäure am Lichte in RAULIN'scher Lösung entstehen, bereits stark antiseptisch wirken. Dagegen erwies sich bei WARD's (1) Versuchen, die mit Milzbrandbazillen vorgenommen wurden, die Belichtung des Nährbodens ohne Einfluß auf seine Geeignetheit zum Gedeihen der Bakterien. Und auch bei weiteren Versuchen WARD's (2) keimten belichtete Sporen keineswegs, als sie auf eine unbelichtete Nähragarschicht gebracht wurden, und hinderte belichteter Nähragar die Keimung nicht belichteter Sporen durchaus nicht. Eine bestimmte Ansicht über den durch Lichtwirkung im Nährsubstrat entstehenden baktericiden Körper entwickelte RICHARDSON (1), der als solchen Wasserstoffsuperoxyd betrachtete und dessen Entstehung in belichteten Nährsubstraten, speziell Harn nachwies. RICHARDSON fand dann auch, daß frischer belichteter Harn antiseptisch wirkt. DIEUDONNÉ (2) konnte die Entstehung von Wasserstoffsuperoxyd bei Belichtung auch im Nähragar nachweisen und fand ferner, daß Belichtung bei Sauerstoffausschluß, in indifferenten Gasen, wo die Wasserstoffsuperoxydbildung ausbleibt, auf den *Bacillus coli* weit weniger energisch wirkt, als bei Sauerstoffzutritt. Immerhin erzielte er auch, wie WARD, auf zuerst belichteten und dann besäten Agarplatten normales Wachstum. Auch nach KRUSE (1) hängt der Grad der bakterieiden Wirkung des Lichtes vom Sauerstoffzutritt ab. Besonders die flüssigen Nährmedien, welche komplizierte, hochmolekulare Stickstoffverbindungen enthalten, werden durch das Licht derart verändert, daß sie direkt antiseptische Eigenschaften annehmen. Trotzdem sind sowohl DIEUDONNÉ wie KRUSE weit entfernt, die Ursache der baktericiden Wirkung des Lichtes allein in Veränderungen des Nährbodens zu suchen. Sie nehmen vielmehr mit WARD (4), wohl mit Recht, neben diesen auch eine direkte Wirkung auf das Bakterienplasma an, wie sie übrigens auch aus dem Absterben eingetrockneter Sporen ohne Nährmaterial unter dem Einfluß der Belichtung folgt.

Neben der großen Mehrzahl der Bakterien, welche auf Belichtung mit einer Schädigung zunächst ihrer Virulenz, des Farbstoffbildungsvermögens, der Wachstumsenergie usw., bei größerer Lichtintensität oder längerer Dauer der Einwirkung mit dem Tode reagiert, gibt es aber eine kleine Anzahl, welche am Licht nicht leidet, zum Teil sogar wohltätig von nicht allzu starkem Licht beeinflußt wird. Dazu gehören die Purpurbakterien samt dem von ENGELMANN (2) beschriebenen *Bacterium photometricum*. Die Purpurbakterien entfalten nach ENGELMANN (1) im Lichte eine, wenn auch schwache, so doch deutliche assimilatorische Tätigkeit gleich der der chlorophyllgrünen Pflanzen. Auch fand BUCHNER (2) in destilliertem Wasser bei Lichtzutritt wachsende farblose Formen. Ferner soll das Wachstum eines von SCHENK (1) isolierten Mikrokokkus durch Licht beschleunigt werden, und nach HÄNLEIN (1) wird auch der bei der Gerbung mit Fichtenrinde Gärungen verursachende *Bacillus corticalis* vom Licht im Wachstum günstig beeinflußt. Vielleicht gehören also auch farblose Bakterien in die photophile Gruppe.

In der Natur spielt übrigens die keimzerstörende Kraft des Sonnenlichtes wohl nur eine geringe Rolle, da sie nur auf die unmittelbar bestrahlten Bakterien wirkt, während ihr die nicht unmittelbar getroffenen

Keime entgehen. Selbst kleine Mengen (1—5 ccm) unreinen Wassers waren nach 7—12stündiger Bestrahlung durch direktes Sonnenlicht noch keineswegs keimfrei. Gartenerde, die in 1 mm dicker Schicht 5 Stunden von blendender Sonne beschienen wurde, war nachher keineswegs steril, sondern enthielt noch immer 17—20 Proz. der ursprünglich vorhandenen Keime in entwicklungsfähigem Zustande.

Die Einwirkung des Lichtes auf Hefen haben Kny (1) und Lohmann (1) untersucht. Mäßiges Licht fand Kny ohne Einfluß. Dasselbe bestätigte Lohmann für das intensive Licht einer Bogenlampe, wenn die Temperatur niedrig war. Bei 18° C und darüber war indes eine verzögernde Wirkung der intensiven Beleuchtung auf die Vermehrung der Hefen nicht zu verkennen. Direktes Sonnenlicht wirkt schließlich tödlich, diffuses Tageslicht verzögernd auf die Sprossung. Verschiedene Arten und Formen erwiesen sich als verschieden empfindlich.

Durch abnorme Steigerung der Lichtintensität, wie sie z. B. Pringsheim (1) bei seinen bekannten Versuchen anwendete, lassen sich wohl alle Organismen abtöten. Das Sonnenlicht ist indes für die meisten Pilze wohl unschädlich. Elfving (2) gibt freilich an, daß die Sporen von *Aspergillus glaucus* durch längere Besonnung getötet werden. Ward (2) konnte aber diese Beobachtung Elfving's nicht bestätigen und fand Belichtung auch unschädlich für Sporen von *Penicillium crustaceum*, *Mucor racemosus* und *Botrytis cinerea*, dagegen schädlich für Sporen von *Oidium lactis*, *Chalara mycoderma*, *Saccharomyces pyriformis* u. a. Da alle von ihm resistent gefundenen Sporen dunkel gefärbt sind, so ist Ward geneigt, überhaupt die Färbung der Pilze für ein Schutzmittel gegen das Licht zu halten. Einen äußerst schädigenden Einfluß übt nach Maximow (1) das Licht auf das Leben von *Rhizopus nigricans* aus.

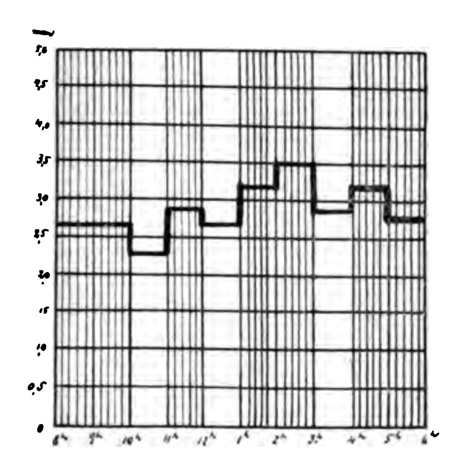


Fig. 65. Kurve der Wachstumsgeschwindigkeit eines Fruchtträgers von *Phycomyces nitens* bei abwechselnder Beleuchtung und Verdunkelung (durch Schraffierung kenntlich gemacht). Temperatur im Mittel 25°. Die Ordinaten geben den stündlichen Zuwachs in Millimetern an. — Nach Vines.

Wie bei anderen Pflanzen, so wird auch bei vielen Fadenpilzen das Längenwachstum durch Beleuchtung verzögert. Vines (1) verfolgte diese Wirkung des Lichtes auf die Fruchtträger von *Phycomyces nitens* genauer (s. *Fig. 65*). Schon bei halbstündiger Dauer der Beleuchtung war die retardierende Wirkung auf das Längenwachstum deutlich. Dieselbe verzögernde Wirkung zeigt sich nach den Untersuchungen Stameroff's (1) bei den reproduktiven Hyphen (jungen Sporangienträgern) von *Mucor mucedo*, während allerdings die vegetativen Hyphen im Licht und im Dunkeln gleich schnell wachsen. Die gleiche Wirkung des Lichtes darf man wohl bei allen Fruchtträgern erwarten, welche bei Lichtmangel Ueberverlängerung zeigen, insbesondere also bei den Fruchthyphen der meisten Mucorineen. Auch einige *Coprinus*-Arten bilden im

Dunkeln nach BREFELD (1, 3) und GRÄNTZ (1) überverlängerte Hutstiele.

Bei *Coprinus*-Arten zeigen sich auch weitere formative Wirkungen des Lichtes: *Coprinus nycthemerus* bildet im Dunkeln nur Mycel, andere Arten (*C. plicatilis, C. ephemerus, C. stercorarius*) allerdings Fruchtkörper, aber nur mit abnormen oder ganz ohne Hutanlagen. Nur bei über 15° C und aus Sklerotien bildet *C. stercorarius* im Dunkeln normale Hüte. Bei *Pilobolus microsporus*, nicht aber bei anderen Arten derselben Gattung oder bei anderen Mucorineen, unterbleibt, wie wieder BREFELD (2, 3) und GRÄNTZ (1) zeigten, die Bildung der Sporangien im Dunkeln. Doch genügt sowohl bei *Coprinus*-Arten wie bei *Pilobolus microsporus* bereits eine kurze Belichtung, um Anlage und Ausbildung des Sporangiums resp. des Hutes zu induzieren, so daß beides fernerhin auch im Dunkeln normal erfolgt. Nur unter bestimmten Ernährungsverhältnissen verhindert Lichtmangel nach LENDNER (1) die Bildung des Sporangiums bei *Mucor flavidus* (Kultur auf RAULIN'scher Nährlösung) und der Sporen im Sporangium bei *M. racemosus*. Nach ELFVING (2) lieferten die Konidien von *Eurotium herbariorum* (*Aspergillus glaucus*) bei einer gewissen mittleren Intensität des Sonnenlichtes Hefenformen, die sich dann nicht mehr in *Eurotium* überführen ließen. Doch gelang der Versuch nur mit einer bestimmten Form von *Eurotium*, nicht mit jedem beliebigen Stamm. Versuche von KLEBS (1), an *Eurotium* (*Aspergillus*) *repens* angestellt, lieferten indessen für diesen Einfluß der Beleuchtung auf die Gestaltung keine Bestätigung. Im übrigen sind *Eurotium repens* und *E. herbariorum* sowie andere gewöhnliche Schimmelpilze (*Penicillium* u. a.) durchaus indifferent gegenüber dem Licht, wenigstens solchem von nicht abnormer Intensität. Wie RINDFLEISCH (1) zuerst erkannt hat, tritt unter gewöhnlichen Verhältnissen, nämlich unter der Einwirkung der täglichen Periode (Wechsel von Tag und Nacht), die Konidienbildung bei *Botrytis cinerea* nur nachts ein. Nach KLEIN (1), der dieses Verhalten näher untersuchte, beruht es darauf, daß die Konidienbildung durch die stärker brechbaren Lichtstrahlen gehemmt wird, und daß diese Hemmung während der Dunkelheit fortfällt. Bei dauernd im Dunkeln sowie im Licht gehaltenen Kulturen von *Botrytis* fällt die tägliche Periodizität der Konidienbildung fort. Das Maximum der Wirkung bei diesen formativen Einflüssen des Lichtes liegt ganz allgemein in der stärker brechbaren Hälfte des Spektrums, im blauen und violetten Teil und erstreckt sich wahrscheinlich über den sichtbaren Teil des Spektrums ins Ultraviolett hinein.

Einen fördernden Einfluß schwacher Beleuchtung (Wintertag) auf die Sporangienträgerbildung von *Pilobolus crystallinus* beobachtete NOLL (1). Vielleicht ist derselbe indes nur ein indirekter und die Förderung vielmehr auf die im Lichte gesteigerte Transpiration, deren Einfluß auf die Bildung der Konidienträger im § 96 betrachtet worden ist, zurückzuführen.

Seitdem neuerdings eine Anzahl von anderen, für unser Auge unmittelbar nicht wahrnehmbaren Wellenbewegungen des Aethers (Röntgenstrahlen, Radiumstrahlen) entdeckt sind, sind auch diese in ihrer Wirkung auf das Leben der Gärungsorganismen untersucht worden. Auf die elektrischen Strahlen wird im nächstfolgenden Paragraphen zurückzukommen sein. Die ersten Untersuchungen über die Wirkung der Röntgenstrahlen auf Bakterien von BECK und SCHULTZ (1), MINCK (1), BERTON (1) und WITTLIN (1) sowie BLAISE und SAMBUC (1) ergaben ein völlig negatives Resultat. Dagegen üben nach RIEDER (1) die Röntgenstrahlen in noch viel höherem Grade als die sichtbaren Lichtstrahlen eine entwick-

lungshemmende bzw. tödliche Wirkung auf Bakterien aus, bei der die von den Röntgenstrahlen ausgehenden Wärmewirkungen sicher keine Rolle spielen. Der Nährboden (Bouillon, Gelatine) wird durch die Bestrahlung mit X-Strahlen nicht untauglich gemacht zur Ernährung von Bakterien, die Wirkung der X-Strahlen scheint also eine direkte zu sein. Trotz- 5 dem ist HOGARTH (1) durch ein englisches Patent ein Verfahren geschützt, leicht verderbliche Substanzen (Mehl, gegorene und gärfähige Flüssigkeiten) durch Bestrahlung mit Röntgenstrahlen haltbar zu machen und in ihrer Qualität zu verbessern! Ein abschließendes Urteil, ob und in welchem Grade die Röntgenstrahlen schädlich auf Bakterienwachstum 10 wirken, ist bei solchem Widerstreit der Angaben nicht möglich. Da nach SECKT's (1) Untersuchungen X-Strahlen bei höheren Pflanzen (Haare des Stammes von *Cucurbita pepo*, der Blattscheide von *Tradescantia Selloi* und der Staubfäden von *Tr. virginica*, *Mimosa pudica*, *Oxalis corniculata*) eine Verminderung des Turgors hervorrufen, so ist, wenn überhaupt 15 schädliche Wirkungen bei Bakterien auftreten, eine Herabsetzung der Turgescenz auch bei ihnen beteiligt.

Noch weniger Sicheres wissen wir von der Wirkung weiterer Strahlengattungen. DAUPHIN (1) untersuchte die Wirkung der Radiumstrahlen auf die Entwicklung einiger Mucorineen. Nach ihm wirken sie hemmend 20 auf das Wachstum des Mycels und die Keimung der Sporen von *Mortierella*, die genauer geprüft wurde, aber nicht tödlich. Aehnlich wirken nach den Versuchen von ASCHKINASS und CASPARI (1) die Radiumstrahlen auf *Bacillus prodigiosus*. Dagegen beobachtete HOFFMANN (1) tödliche Wirkung der Radiumstrahlen auf denselben Bazillus, ferner *Staphylo-* 25 *coccus pyogenes aureus* und *Bacillus anthracis*. Nach RICHET (1), der die Einwirkung der Strahlen phosphoreszierenden Schwefelcalciums auf die Milchsäuregärung näher untersuchte, nahm in säuernder Milch zu Beginn der Gärung unter dem Einfluß phosphoreszierenden Schwefelcalciums die Säure etwas rascher zu als in der Kontrollprobe; später indessen kehrte 30 sich das Verhältnis um und wurde die Säuerung durch die Einwirkung der Schwefelcalciumstrahlen verzögert. Das Schwefelcalcium wurde bei dem Versuche in Watte fein verteilt und mit dieser wurden dünne Glasröhren gefüllt, die dann in die Milch eingehängt wurden. RICHET ist geneigt, die Wirkung nicht dem sehr schwachen Lichte des Schwefel- 35 calciums, sondern den unsichtbaren (Radium-) Strahlen zuzuschreiben.

§ 99. Einfluß der Elektrizität.

Eine Beeinflussung der Wachstumstätigkeit durch den elektrischen Strom ist bisher für Mikroorganismen ebensowenig wie für höhere Pflanzen mit Sicherheit nachgewiesen. Um so häufiger ist der Einfluß 40 des elektrischen Stromes auf die Lebensfähigkeit der Gärungsorganismen untersucht worden.

Die erste darauf bezügliche Arbeit rührt von SCHIEL (1) her. Ihr folgten weiter die Untersuchungen von COHN und MENDELSOHN (1), APOSTOLI und LAQUERRIÈRE (1), PROCHOWNIK und SPÄTH (1) und von 45 DUCLAUX (2). Bei allen Versuchen, die diesen Arbeiten zugrunde lagen, wurde der elektrische Strom durch das Medium, in dem die Bakterien lebten, hindurchgeleitet. Das bedeutet einen Grundfehler in bezug auf die Methodik: Bei dieser Art der Versuchsanstellung sind ja natürlich chemische (elektrolytische) Veränderungen der Nährlösung nicht ausge- 50

schlossen, welche an sich zum Tode der Bakterien führen können, ohne daß der Strom als solcher schädigend wirkt. Dementsprechend beobachteten COHN und MENDELSOHN denn auch, daß Ströme, welche die Bakterien der Kulturflüssigkeit merklich schädigten, auch die Flüssigkeit selbst zur Kultur von Bakterien untauglich machten. Die durch solche Ströme hervorgerufenen Einwirkungen gehören also großenteils in das Gebiet der chemischen Einflüsse. Solche waren auch nicht ausgeschlossen bei den Versuchen von BURCI und FRASCANI (1), welche die Bakterien resp. die mit ihnen geimpfte Lösung an Glaswollbauschen bei niederer Temperatur antrockneten und diese dann in Quecksilber eintauchten, das in einen Strom von gleichbleibender Stärke eingeschaltet war. Der Tod der Bakterien, der bei diesen Versuchen eintrat, kann auch noch chemischen (elektrolytischen) Veränderungen der eingetrockneten Bestandteile der Nährlösung zuzuschreiben sein, da diese ja noch immer hygroskopische Feuchtigkeit enthielten.

Ausgeschlossen war die genannte Fehlerquelle erst bei Versuchen, die derart eingerichtet waren, daß der elektrische Strom überhaupt nicht mehr direkt zu der die Bakterien enthaltenden Nährlösung Zutritt erhielt, wie bei den Versuchen von SPILKER und GOTTSTEIN (1). Bei diesen wurde das Kulturgefäß mit dem Leitungsdraht umwickelt und durch diesen ein Induktionsstrom geleitet. *Micrococcus prodigiosus*, in Wasser oder Nährgelatine, wurde getötet, wenn auf den 250 ccm betragenden Inhalt des Glasgefäßes ein Strom von 2,5 Ampère und 1,25 Volt 24 Stunden lang einwirkte. Andere Bakterien, z. B. gewisse zählebige, Endosporen bildende Milchbewohner, erwiesen sich als resistenter. Eine völlige Sterilisierung der Milch mit Hilfe der beschriebenen Versuchsanordnung gelang daher nicht, wohl aber eine wesentliche Herabminderung der Zahl der lebenden Keime. D'ARSONVAL und CHARRIN (1) vermochten durch zwanzigminutlichen Aufenthalt innerhalb eines von einem Strom von 10 000 Volt Spannung durchflossenen Solenoids dem *Bacillus pyocyaneus* des blauen Eiters das Vermögen der Farbstoffbildung fast gänzlich zu nehmen. Abschwächungen der Virulenz beobachtete S. KRÜGER (1) an einigen pathogenen Arten. FRIEDENTHAL (2) allerdings, dem wir auch eine Zusammenfassung (1) der bis dahin bekannten Tatsachen und Anschauungen über die Frage verdanken, vermochte einen Einfluß des elektrischen Stromes auf die Lebensfähigkeit der Bakterien nicht zu finden, wenn der Strom in einer Spirale das mit bakterienhaltiger Flüssigkeit gefüllte Glasrohr umfloß, und durch Kühlung eine Temperaturerhöhung vermieden wurde. In sehr sorgfältigen Versuchen haben THIELE und WOLF (1) im Jahre 1899 die Einwirkung strömender Elektrizität auf Bakterien untersucht. Sowohl Elektrolyt- wie Wärmewirkung waren bei ihren Versuchen ausgeschlossen. Das Ergebnis derselben stimmt mit dem von FRIEDENTHAL's Versuchen überein: Der elektrische Strom, sowohl Gleichstrom wie Wechselstrom, erwies sich innerhalb der untersuchten Stromstärken als ganz unschädlich und unwirksam gegenüber den untersuchten Bakterien (*Bacillus prodigiosus*, *B. typhi murium*, *B. pyocyaneus*, *B. anthracis*), auch bei bis 62-stündiger Dauer der Einwirkung.

Der elektrische Strom als solcher scheint also irrelevant für das Leben der Bakterien und anderer Mikroorganismen zu sein und nur zu wirken entweder vermöge der von ihm erzeugten Wärme oder vermöge der hervorgerufenen Elektrolyse der Nährflüssigkeit. Diese wirkte z. B. auch bei den Versuchen von LEHMANN und ZIERLER (1), bei denen die

Hauptwirkung dem aus dem Kochsalz der Nährlösung durch die verwendeten schwachen Ströme gebildeten Elektrolyten Chlor und der Salzsäure zu verdanken war.

Im umgekehrten Verhältnis zu dem geringen Einfluß, der nach den exakten wissenschaftlichen Untersuchungen dem elektrischen Strom als solchem gegenüber den Bakterien eigen ist, steht der Umfang, in welchem die Verwendung der strömenden Elektrizität zu praktischen Zwecken (Haltbarmachung und Verbesserung von Flüssigkeiten, Sterilisierung usw.) angeraten oder versucht worden ist. Soweit ein Erfolg bei diesen Behandlungsarten überhaupt festzustellen oder zu erwarten ist, kann er nach dem eben Mitgeteilten nur auf elektrochemischem Wege zustande kommen.

Nach einer Zusammenstellung von DAHLEN (1) machte schon HULL im Jahre 1845 den abenteuerlichen Vorschlag, den Geschmack des Weines durch Elektrolyse und durch Entfernung der am positiven Pol sich ausscheidenden Säure zu verbessern. SCOUTETTEN (1) und FICHTNER (1) fanden bei Versuchen im kleinen, daß der elektrische Strom geeignet sei, die Reife des Weines zu beschleunigen. TERREL DES CHÊNES (1) indessen hält auf Grund seiner Versuche die Elektrizität für das beste Mittel, einen Wein zu verderben; er verglich den elektrisierten Wein mit erwärmtem (pasteurisiertem) und unbehandeltem. SOMMER (1), der wieder günstige Wirkungen vom Elektrisieren beobachtet haben wollte, suchte diese zu erklären einmal durch die Einwirkung des gebildeten aktiven Sauerstoffs auf Weinbestandteile, ferner durch die Annahme einer Bildung von Estern aus den bei der Elektrolyse frei werdenden Säuren und dem Alkohol und endlich aus der eintretenden Abtötung der Weinorganismen, infolge deren der Wein haltbarer werde. BERSCH (1) beobachtete günstige Einwirkung schwacher Ströme auf größere Weinmengen, während VOLLMAR (1) auch bei mehrtägiger Behandlung von Weinen auf der Flasche mit dem Strom von vier Meidingerelementen als Wirkung ein gewisses Altern (Reifen) und unbegrenzte Haltbarkeit erhalten haben will. TOLOMEI (1) behandelte endlich mit strömender Elektrizität Weine, die zum Umschlagen neigten, um die Organismen, welche das Umschlagen verursachten, zu töten. Eine Zusammenstellung der bis 1891 vorliegenden Verfahren zur Behandlung alkoholischer Getränke mit strömender Elektrizität hat SCHROHE (1) gegeben.

SCHROHE hat dort gleichzeitig auch über die Behandlung von Wasser mit Elektrizität berichtet. Zur Reinigung von Abwässern leitete WEBSTER (1) das zu reinigende Wasser durch einen Kanal, in welchen große Eisenplatten tauchten, die als Elektroden für einen starken, von einer Dynamomaschine gelieferten Strom dienten. Nach FERMI (1), der das Verfahren auf seine Wirksamkeit prüfte, wird die Keimzahl bei demselben durch einen Strom von 0,5—1 Ampère Stärke auf $^1/_{50}$ bis $^1/_{100}$ der ursprünglichen Menge verringert. Zusatz von Chlornatrium begünstigte die Wirkung des Stromes. Nach KÖNIG und REMELÉ (1) wirkt das WEBSTER'sche Verfahren indessen nicht auf elektrochemischem Wege (Oxydation durch Chlorentwicklung), sondern rein mechanisch klärend. Am positiven Pol geht Eisen als Chlorid in Lösung, und durch das am negativen Pol gebildete Alkali wird Eisenoxydhydrat gefällt, das die Schwebestoffe mit sich reißt. Nur kurz hingewiesen sei auf das neue sehr wirksame Verfahren von Siemens und Halske zur Sterilisierung von Trinkwasser: bei demselben wird das Wasser in feinster Verteilung in innigste Berührung mit ozonreicher Luft gebracht, die mit Hilfe hochgespannter elektrischer Ströme bereitet wird, indem gewöhnliche Luft

zwischen eigenartigen Elektroden durchströmt. Die Elektrizität spielt hier nur insofern eine Rolle, als sie zur Darstellung des eigentlich wirksamen Ozons benutzt wird.

Zur Sterilisierung resp. Pasteurisierung der Milch fand DUBOUSQUET-5 LABOURDERIE (1) den elektrischen Strom unbrauchbar, sobald nicht durch den Strom die Temperatur auf 80—100° erhöht wurde. Gleichstrom zerstört die Milch durch Elektrolyse, Wechselstrom tötet die Organismen der Milch nicht.

Die Einwirkung des elektrischen Stromes auf Hefe hatte FOTH (1) 10 bereits 1890 mit dem Ergebnis untersucht, daß der elektrische Strom als solcher so gut wie unwirksam ist, daß aber die von ihm hervorgerufenen elektrochemischen Veränderungen der Nährflüssigkeit tödlich auf die Hefe wirken können. Ueber die durch MOLLER versuchte praktische Ausnutzung dieser Resistenz wird das 11. Kapitel des 15 V. Bandes nähere Angaben bringen.

§ 100. Einfluß des Druckes.

Normalerweise verläuft der Entwicklungsgang der meisten Organismen bei Atmosphärendruck. Bei erheblich höherem Druck wachsen unter natürlichen Verhältnissen eigentlich nur die Tiefseeorganismen, über 20 deren Verbreitungsgrenzen nach unten hin DIEUDONNÉ (4) orientiert. Die in einer Tiefe von 200—400 m nach B. FISCHER (3) sehr zahlreichen Bakterien sind dauernd einem Druck von 20—40 Atmosphären ausgesetzt. RUSSEL (1) fand selbst in 1100 m Tiefe noch lebende Bakterien, die also ohne Schaden einen Druck von über 100 Atmosphären dauernd 25 ertragen müssen, und nach B. FISCHER (2) bilden 1100 m wohl die untere Tiefengrenze, bis zu der lebende Bakterien regelmäßig gefunden werden, aber das Bakterienleben hört nicht wegen der Druckzunahme, sondern wegen der Temperaturabnahme in solchen Tiefen allmählich auf. Diese Anschauung findet auch eine Bestätigung in dem 30 Nachweis, daß selbst die normal unter Atmosphärendruck lebenden Gärungsorganismen enorme Drucksteigerungen ohne Schaden vertragen. Nach MELSENS (1) werden Hefenzellen durch einen Wasserdruck von 8000 Atmosphären nicht geschädigt. Ebenso fand CERTES (1) Drucksteigerung auf 350—500 Atmosphären für Fäulnisbakterien, auf 300—400 35 Atmosphären für Hefenzellen unschädlich, und dasselbe bestätigten die Untersuchungen von ROGER (1), der erst bei Einwirkung eines Ueberdrucks von 3000 kg pro Quadratzentimeter auf die Flüssigkeit $^1/_2$ der Bakterienkeime (*Bacillus coli* und andere) absterben sah, einen Druck von 1000 kg aber noch unwirksam fand. Noch neuerdings veröffent-40 lichte Untersuchungen von CHLOPIN und TAMMANN (1) stimmen mit diesen Ergebnissen vollkommen überein: Drucke von bis zu 3000 kg pro qcm töten weder Bakterien noch Hefen noch Schimmelpilze. Einmalige schnelle Steigerung des Druckes auf 3000 kg und sofortige Erniedrigung wirkt schwach schädigend. Erst eine sechsmal wieder-45 holte derartige schnelle Druckminderung lähmt das Wachstum von Gärungsorganismen stark. Ein konstanter Druck von 2000—3000 kg wirkt um so mehr, je länger er dauert, und je höher die Temperatur ist. Die Wirkung äußert sich in Verlangsamung der Bewegung, Hemmung oder Verlust der Vermehrungsfähigkeit, des Farbstoffbildungsvermögens, 50 der Gärfähigkeit, in Schwächung der Virulenz bei pathogenen Organismen.

Verhältnismäßig empfindlich gegen hohen Druck sind *Bacillus pyocyaneus*, *Vibrio cholerae* und andere, sehr unempfindlich *Bacillus anthracis*, Heubazillen, *Oidium lactis* und Hefe. Jedenfalls aber ist auch nach diesen Untersuchungen die Wirkung einer Druckerhöhung recht gering.

Nachdem einfache Druckerhöhung sich so als ziemlich unwirksam 5 erwiesen hatte, versuchte man durch Vereinigung der Wirkung des Druckes mit der chemischen Wirkung nicht indifferenter Gase (Sauerstoff und besonders Kohlensäure) praktisch verwertbare Resultate in der Richtung einer Vernichtung der Bakterien zu erhalten. Schon P. Bert (1) konnte ja angeblich durch Einwirkung von komprimiertem Sauerstoff 10 bakterienhaltige Flüssigkeit keimfrei machen und konservieren. So wollte auch d'Arsonval (1) eiweißhaltige und sonstige Flüssigkeiten, welche ein Aufkochen nicht vertragen, sterilisieren, indem er unter einem Druck von 45 Atmosphären stehende Kohlensäure auf sie einwirken ließ, sie dadurch aber gleichzeitig durch Porzellanfilter preßte. 15 Die Filtration dürfte wirksam gewesen sein. Nach späteren Veröffentlichungen (2) soll freilich Einwirkung von Kohlensäure unter Druck Bakterien mehr oder weniger schädigen. Bei einer Nachprüfung fanden aber Sabrazès und Bazin (1) einen Kohlensäuredruck bis zu 90 Atmosphären gegenüber den verschiedensten Bakterien unwirksam. Nourry 20 und Michel (1) schlossen daraus auf eine bakterienhemmende Wirkung der Kohlensäure unter höherem Druck, daß damit behandelte Milch bei gewöhnlicher Temperatur erst sehr viel später koagulierte als die Vergleichsmilch. Daß diese Deutung des Versuchsergebnisses nicht berechtigt war, folgt schon aus den Untersuchungen von Schaffer und 25 Freudenreich (1), nach denen selbst 7 Tage lange Einwirkung von Kohlensäure unter Druck von 50 Atmosphären auf mit verschiedenen Bakterien geimpfte Milchproben eine merkliche Schädigung der eingeimpften Formen nicht hervorrief. Ebensowenig wirksam erwies sich Sauerstoff unter hohem Druck. Nur erwähnt sei Graeger's (1) Patent, 30 nach welchem geklärter Most durch Behandlung mit Kohlensäure bei mindestens 5 Atmosphären Ueberdruck haltbar gemacht werden sollte, obgleich, auch nach den Versuchen von Evans (1), ein Kohlensäuredruck nicht einmal die Hefengärung hindert. Nach alledem erscheint der Gedanke an eine Konservierung durch Erhöhung des Druckes gänzlich 35 aussichts- und hoffnungslos. Trotzdem will auch neuerdings wieder ein Erfinder Dr. Herzfeld (1) ein eigenartiges Verfahren zum Konservieren von Lebensmitteln sich patentieren lassen, bei dem nach dem Patentanspruch wesentlich die Kohlensäure unter Druck wirken soll.

Ebensowenig Einfluß auf das Gedeihen der Gärungsorganismen wie 40 eine Erhöhung des Druckes hat eine Erniedrigung desselben. Für sauerstoffbedürftige Gärungsorganismen ist natürlich schon mit dem Sauerstoffbedarf selbst eine untere Grenze der Luftdruckverminderung gegeben, bei welcher noch Wachstum möglich ist und erfolgt. Diese untere Grenze liegt, wie Chudiakow (1) fand, bei verschiedenen Organismen 45 verschieden. Indessen gehören diese Verhältnisse kaum hierher (s. S. 314 u. 315), da es sich beim Sauerstoffbedarf um Stoffwechselvorgänge handelt. Eine Verminderung des Druckes der Luft führt eben immer auch eine Verminderung des Sauerstoffes, eines wesentlichen Nährstoffes für aerobiotische Organismen, herbei. Anaerobiotische Organismen würden 50 anscheinend auch im luftleeren Raume unbeeinflußt wachsen und gedeihen (s. das 23. Kapitel).

Die Grenze der Luftverdünnung, bei der Eumyceten noch wachsen

und Konidienträger bilden, hat KLEBS (1, 2) für *Aspergillus repens*, *Mucor racemosus* und *Sporodinia grandis* bestimmt. Wie vorauszusehen, fand er sie zum Teil für verschiedene Organe und Funktionen verschieden. So liegt die untere Grenze für die Bildung von Konidien-
5 trägern bei *Eurotium (Aspergillus) repens* bei ca. 5 mm Druck, die für die Mycelbildung etwas tiefer. Bei *Mucor racemosus* beginnt die Bildung von Sporangienträgern bei ca. 6 mm Druck, während Mycelbildung, wenn auch spärlich, noch bei ca. 3 mm Druck stattfindet. Für *Sporodinia grandis* liegt die untere Grenze der Bildung von Geschlechtsorganen bei
10 ca. 20—25 mm Druck, die für die Bildung von normalen Sporangienträgern zwischen 10 und 15 mm. Bei 10 mm Druck werden Sporen in den Endanschwellungen der entstandenen Träger nicht mehr gebildet, und die untere Grenze der Mycelbildung liegt bei 3—5 mm Druck. Inwieweit dabei die in luftverdünntem Raum vorhandene Erschwerung
15 der Deckung des Sauerstoffbedarfs wirkt, ist ungewiß. Jedenfalls hat aber diese Wirkung einen ganz wesentlichen Anteil am Gesamteffekt.

§ 101. Der Einfluß von Ruhe und Bewegung.

Daß in und auf ruhenden Nährböden das Wachtum der Gärungsorganismen normal verläuft, ist allgemein bekannt und erscheint als
20 selbstverständlich. Auch fortgesetzte ruhig fließende Bewegung hemmt nach HOPPE-SEYLER (1), wie auch die tägliche Erfahrung lehrt, das Wachstum von Bakterien nicht. Anders ist es mit lange andauernden, kontinuierlichen, intensiven Erschütterungen. Wie HORVATH (1) gezeigt hat, wirken schwache Erschütterungen auf das Gedeihen von Bakterien
25 allerdings nicht ein, wirkt indessen starkes Schütteln stark hemmend bis gänzlich verhindernd auf die Vermehrung der Bakterien. HORVATH setzte seine Kulturen der Einwirkung einer Schüttelmaschine aus, welche dieselben in der Minute etwa 100 geradlinige Bewegungen von ca. 25 cm Schwingungsweite machen ließ. Wurde das Schütteln in dieser Weise
30 24 Stunden fortgesetzt, so wurde die Vermehrung der Bakterien sistiert, bei 48-stündiger Dauer waren die Bakterien tot. Die Wirkung nimmt also einmal mit der Intensität und zweitens mit der Dauer des Schüttelns zu. Hervorzuheben ist, daß die schädliche Wirkung des Schüttelns keineswegs auf mechanische Verletzung der Bakterienzellen zurückgeführt
35 werden konnte. Demgegenüber machte NÄGELI (1) darauf aufmerksam, daß gewisse Pflanzen, besonders Algen, gerade mit Vorliebe an den Stellen lebhaftester Bewegung im Wasser sich ansiedeln, z. B. unter Wasserfällen, daß also jedenfalls eine Verallgemeinerung der Versuchsergebnisse HORVATH's auf alle Bakterien, geschweige denn Pflanzen, nicht
40 angängig sei. Das bestätigten bald Versuche HANSEN's (1), nach denen Bewegung der Nährflüssigkeit (Bierwürze) durch ein Rührwerk die Vermehrung eingesäter Hefe sogar förderte. Die Sauerstoffzufuhr durch das Rühren war bei HANSEN's Versuchen nur sehr gering, kann also als Fehlerquelle, welche durch ihre günstige Wirkung die ungünstige der
45 Bewegung verdeckt haben könnte, nicht in Betracht kommen. Im Jahre 1880 veröffentlichte REINKE (1) neue Versuche, bei denen er, einem theoretischen Einwurfe NÄGELI's gegen HORVATH's Versuche Rechnung tragend, auf die zu untersuchenden Gärungsorganismen Bewegungszustände, Schwingungen einwirken ließ, welche den von NÄGELI als
50 unmittelbare Ursache der Gärung angenommenen molekularen Schwingungen

der Plasmamoleküle etwas ähnlicher waren als HORVATH's große Schüttelbewegungen. REINKE ließ ein vergoldetes Messingrohr in die Nährflüssigkeit tauchen, das durch Reiben in longitudinale (Schall-)Schwingungen versetzt wurde. Das Ergebnis war eine merkliche Hemmung, aber nicht Unterdrückung des Wachstums. BUCHNER (1) fand noch in 5 gleichem Jahre mechanische Erschütterung durchaus nicht hinderlich für das Wachstum des Heubacillus, und nach ROSER (1) sowie TUMAS (1) begünstigt Bewegung sogar das Wachstum von Mikroorganismen.

In Uebereinstimmung mit NÄGELI's Ansicht zeigten die Untersuchungen von B. SCHMIDT (1), daß im Verhalten gegen Erschütterung 10 wesentliche Unterschiede zwischen verschiedenen Arten existieren: Während *Staphylococcus pyogenes citreus* oder Choleravibrionen fast gänzlich vernichtet wurden, litten durch dieselbe Erschütterung der Typhusbazillus, *Micrococcus prodigiosus, Staphylococcus pyogenes aureus* und *St. p. albus* und Hefe gar nicht, und andere wurden nur geschwächt. RUSSEL (2), 15 der mit *Monilia candida, Saccharomyces mycoderma* und *Oidium albicans* arbeitete, kam bei diesen zu dem Ergebnis, daß ihre Vermehrung durch mechanische Bewegung behindert wird. Dagegen bestätigt MELTZER (1) die Ergebnisse B. SCHMIDT's. Nach ihm begünstigt ein gewisser geringer Grad von Bewegung das Gedeihen; ein Ueberschreiten des Optimums, 20 das für verschiedene Organismen verschieden ist, wirkt schädigend, des Maximums vernichtend. *Bacillus megaterium* erwies sich als sehr empfindlich, *B. fluorescens liquefaciens* als sehr resistent. MELTZER arbeitete mit einer Schüttelmaschine, mittels deren er die Versuchsproben in der Minute 180 geradlinige Schwingungen von einer Amplitude 25 von 40 cm machen lassen konnte. Die Probeflaschen wurden nur zu $^1/_3$ gefüllt. Bei genügend langer Dauer des Schüttelns konnten die Flaschen nahezu keimfrei gemacht werden. Noch intensiver und schneller war die Wirkung, wenn dem Inhalt der Probeflaschen sterilisierte Glasperlen zugesetzt waren. Der Erfolg des Schüttelns zeigte sich darin, daß die 30 Bakterien zu feinstem Staube zerfielen, was schon darauf hindeutet, daß es sich nicht um einen grob mechanischen Vorgang des Zerreibens u. dgl. handelte. Dies wird bestätigt durch das Ergebnis eines weiteren Versuchs, bei welchem die Flaschen mit Kulturen von *B. megaterium* einige Tage lang dem ununterbrochenen Zittern ausgesetzt wurden, in 35 das die Tag und Nacht arbeitenden Maschinen einer großen Newyorker Brauerei das ganze Gebäude Tag und Nacht versetzten: Nach 4 Tagen erwiesen sich alle Keime in den betreffenden Flaschen als tot und ebenfalls zu feinstem Staube zerfallen, während in den ruhig aufgestellten Kontrollflaschen eine lebhafte Vermehrung der Bakterien eingetreten war. 40

Eine Hemmung der Gärtätigkeit von Hefe durch mechanische Erschütterung beobachteten BUCHNER und RAPP (1). Sie trat ein sowohl im Schüttelapparat wie beim Durchleiten von Luft oder Wasserstoff durch die Gärflüssigkeit und war um so stärker, je schlechter die Gärflüssigkeit nährte, und je geringer die Aussaat war. Die Hemmung trat 45 selbstverständlich nur auf, wenn die Erschütterung ein gewisses Maß überschritt. Mäßige Bewegung wirkt fördernd auf die Gärtätigkeit der Hefe.

APPEL (1) kommt auf Grund seiner ausgedehnten Versuche nicht zu einer Bestätigung der MELTZER'schen Anschauungen über die Wirkung 50 der mechanischen Erschütterung, die in seinen Versuchen durch einen tönenden Glasstab, durch die Siebvorrichtung einer Mühle und durch verschiedene Schüttelmaschinen hervorgebracht wurde. Außerdem wurden

die kaum bemerkbaren Erschütterungen eines Maschinenhauses und die gröberen Erschütterungen verschiedener Teile einer Dampfmaschine benutzt. Die Organismen — Pilze, Hefen und Bakterien — wurden in halbgefüllten Reagensgläsern kultiviert, deren Inhalt zum Teil Granate zugesetzt 5 waren. Bei Pilzen wurde molekularer Zerfall nie beobachtet, nur mechanische Zerreißung und Zerreibung beim Schütteln mit Granaten, sonst ungehindertes Wachstum. Bakterien verhielten sich recht verschieden. Eine Reihe von Arten zeigte in Flüssigkeitskulturen Wachstumsförderung, zu erklären als Folge der Durchlüftung und des geförderten 10 Zerfalls der fädigen Verbände. Sterilität von Bouillonkulturen wurde nur durch längeres Schütteln erzielt. Die schädigende Wirkung war entsprechend der Flächenausdehnung und Dicke der Membranen bei den verschiedenen Arten, so daß es sich hier wahrscheinlich um rein mechanische Schädigungen durch Zerreiben usw. gehandelt hat. Kulturen auf 15 festen Nährböden verhielten sich, geschüttelt und ungeschüttelt, ganz gleich. Demnach scheint der Erschütterung eine spezifische Wirkung überhaupt nicht eigen zu sein.

§ 102. Sonstige äußere Einflüsse physikalischer Natur.

Auf das Wachstum von Bakterien und Hefen übt die Schwerkraft, 20 wenn überhaupt, so jedenfalls nur einen sehr geringen Einfluß aus. Gering ist der Einfluß der Schwerkraft auch bereits bei den hierher gehörigen Schimmelpilzen. Immerhin beobachtete Elfving (1) bei seinen Versuchen, als er den Wachstumsvorgang der Sporangienträger von *Phycomyces nitens* abwechselnd in senkrecht aufwärts und senkrecht 25 abwärts gerichteter Stellung untersuchte, eine merkliche Verzögerung des Wachstums in der inversen Stellung, und ähnlich gibt Ray (1) für *Sterigmatocystis alba* eine Wachstumshemmung durch die Schwerkraft an. Uebrigens wird nach Elfving das Wachstum der Sporangienträger von *Phycomyces* nicht beeinflußt, wenn dieselben in horizontaler Lage am 30 Klinostaten gedreht wurden und die Schwerkraft demnach senkrecht auf die Längsachse der Sporangienträger wirkte, die geotropische Aufwärtskrümmung aber vermieden war. Bei höheren Pilzen (Hymenomyceten) sind formative Einflüsse der Schwerkraft anscheinend verbreiteter, da das Hymenium vielfach nur an der dem Erdzentrum zugekehrten Seite 35 des Hutes entsteht.

Ueber den Einfluß der Centrifugalkraft auf das Gedeihen der Gärungsorganismen liegen Versuche nicht vor.

Auch über den Einfluß von Verletzungen ist wenig bekannt. M. Ward (4) zeigte, daß der spontane Zerfall der Fäden von *Bacillus* 40 *ramosus* jedesmal eine Wachstumsverzögerung zur Folge hat, und Townsend (1) fand, daß bei *Phycomyces nitens* durch eine Verletzung des Mycels das Wachstum des Sporangienträgers wesentlich verlangsamt wird. Nach einiger Zeit macht in beiden Fällen die Wachstumsverzögerung wieder normalem Wachstum Platz. Die hohe Regenerationsfähigkeit 45 der Pilze bei Verletzungen ist bekannt. Selbst isolierte Plasmamassen von Mucorineen regenerieren nach van Tieghem (1) unter günstigen Bedingungen wieder den Pilz. Bei Bakterien und Hefenzellen ist allerdings eine derartige Regenerationsfähigkeit nicht bekannt.

Bei einigen Pilzen wirkt die Berührung mit einem festen Körper 50 oder einer Flüssigkeitsoberfläche als Reiz. So bilden die Ranken von

Rhizopus nigricans, wenn sie auf einen festen Körper oder eine Flüssigkeitsoberfläche stoßen, sofort Rhizoiden (WORTMANN [1]). Bekannt ist die als Folge eines Berührungsreizes eintretende Bildung von Haftorganen bei *Botrytis cinerea* und anderen *Botrytis*-Formen, *Sclerotinia Libertiana* und einigen anderen Sclerotinien, die indessen hier, in einer technischen Mykologie, nicht in Betracht kommen. Wenn die Mycelfäden dieser Pilze auf einen genügend festen Körper treffen, so bilden sie eigenartige, sehr auffallende quastenförmige Haftorgane, die BREFELD (2) und BÜSGEN (1) abgebildet haben. DE BARY (2) gibt folgende Schilderung ihrer Entwickelung: „Hyphenäste von nicht streng bestimmbarer Stellung und Succession bilden an ihren wachsenden Enden dicht und rasch hintereinander kurze und durch zahlreiche Querwände in kurze Gliederzellen geteilte Zweige wiederholter Ordnungen. Dieselben drängen sich mit ihren geraden Seitenflächen fast lückenlos dicht aneinander, zu quastenartigen Büscheln von etwa konischer Gesamtform. Ihre stumpfen breiten Enden stemmen sich sämtlich oder der Mehrzahl nach auf die Fläche des Substrats (des ihrem Vordringen Widerstand leistenden festen Körpers), und hiermit steht das Wachstum des Büschels alsbald still.“ Es ist bereits erwähnt, daß es zur Bildung der eigenartigen Appressorien bei der hierher gehörigen Pilzgruppe nur kommt, wenn der Körper, auf den die fortwachsenden Hyphenspitzen treffen, ihrem Eindringen einen gewissen Widerstand entgegensetzt. Die Appressorienbildung tritt daher ein beim Auftreffen der in Nährlösung oder Luft wachsenden Hyphen auf einen festen Körper. Einen zur Bildung des Appressoriums genügenden Widerstand bietet aber Lufthyphen von *Botrytis* bereits die Oberflächenspannung eines Wassertropfens. Dagegen kommt es nicht zur Bildung des Haftorgans beim Auftreffen des in Nährlösung wachsenden *Botrytis*-Mycels auf weiche, wasserreiche (tote) Pflanzenteile. Ausschlaggebend für das Zustandekommen oder Ausbleiben der Appressorienbildung scheint demnach die Differenz zu sein zwischen dem Widerstand, den das bisherige umgebende Medium dem Vordringen des Mycels entgegensetzt, und dem, welchen die Oberfläche des neuen entgegenstehenden Körpers bietet. Schon BÜSGEN (1), dem wir eine genauere Untersuchung der Quastenbildung bei *Botrytis* verdanken, hat beobachtet, daß man auch die Fruchtträger willkürlich dadurch ganz oder teilweise zu Appressorien umgestalten kann, daß man sie veranlaßt so zu wachsen, daß sie gegen einen festen Körper stoßen. Dasselbe bestätigte HORN (1), der indessen entschieden zu weit geht, wenn er die Appressorien von *Botrytis* ausnahmslos als metamorphosierte Konidienträger betrachtet. Dagegen spricht schon das Vorkommen ganz gleicher Appressorien bei solchen Sclerotinien, in deren Formenkreis eine *Botrytis* überhaupt nicht gehört. Zudem werden Appressorien bei entsprechender Reizung der Mycelfäden auch innerhalb der Nährflüssigkeit gebildet, wo es niemals zur Bildung von Konidienträgern kommt.

Eine Wachstumsverzögerung hat die Berührung der wachsenden Spitze von *Phycomyces*-Fruchtträgern nach TRZEBINSKI (1) zur Folge.

Literatur

zum Kapitel Beeinflussung der Zuwachsbewegung und der Gestaltung durch physikalische Kräfte.

***Apostoli** und **Laquerrière,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1890, Bd. 110, S. 918.
***Appel,** (1) Ueber die Einwirkung von Erschütterungen auf das Leben der Pflanzen.

bes. der Bakterien. Schriften der physik.-ökon. Gesellsch. zu Königsberg i. Pr., 1899, Bd. 40. ***Arloing,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1855, Bd. 100, S. 378; Bd. 101, S. 511 u. 535. ***Arsonval, A. de,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 112, S. 667. — (2) Comptes rend. de la soc. de biol., 1893, S. 532 u. 1028. ***Arsonval, A. de, und Charrin, A.,** (1) Comptes rend. de la soc. de biol., 1893, S. 467. ***Aschkinass und Caspari,** (1) Pflügers Archiv, 1901, Bd. 86, S. 603. ***Bachmann,** (1) Bot. Ztg., 1895, 1. Abt., S. 107. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1899, Bd. 34, S. 279. ***Bang, S.,** (1) Mitteilungen aus Finsens mediz. Lichtinstitut, Kopenhagen 1903, Bd. 2, S. 1. ***Barnard, J. E., und Morgan, R. de,** (1) Proc. Royal Soc. London, 1903, Bd. 72, S. 126. ***Bary, A. de,** (1) Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze usw., Leipzig 1884. — (2) Bot. Ztg., 1886. Bd. 34, S. 377. ***Beck, M., und Schultz, P.,** (1) Z. f. Hyg., 1896, Bd. 23, S. 490. ***Bersch,** (1) Der Wein und sein Wesen, 1878, Bd. 2, S. 198. ***Bert, P.,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1878, Bd. 76, S. 351. ***Berton, F.,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 123, S. 109. ***Bie, V.,** (1) Oversigt over Videnskabelinees Selskabs Forhandlinger, 1898, S. 29; Kochs Jahresb., 1898, Bd. 9, S. 57. ***Blaise und Sambuc,** (1) Comptes rend. de la soc. de biol., 1897, S. 689. ***Brefeld, O.,** (1) Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, 1877, Bd. 3. — (2) Ebenda, 1881, Bd. 4. — (3) Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie, 1889, Bd. 8. — (4) Ueber die geschlechtlichen und ungeschlechtlichen Fruchtformen bei den kopulierenden Pilzen. Sitzgsber. d. Schles. Ges. f. vaterl. Kult., 1891. ***Buchner, H.,** (1) Sitzgsber. d. Kgl. Bayr. Akad. d. Wiss., 1880, H. 3. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 11, S. 781. — (3) Ebenda, 1892, Bd. 12, S. 217. ***Buchner, H., und Nägeli, K. von,** (1) Sitzgsber. d. Kgl. Bayr. Akad. d. Wiss., 1880, S. 375. ***Buchner, Ed., und Rapp, R.,** (1) Z. f. Biologie, 1898, Bd. 37, S. 82. (Auch in Ed. Buchner, H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung, München 1903, S. 350.) ***Büchner,** (1) Zuwachsgröße und Wachstumsgeschwindigkeit bei Pflanzen, Diss. 1901. ***Büsgen,** (1) Bot. Ztg., 1. Abt., 1893, Bd. 51, S. 53. ***Burci, E., und Frascani, V.,** (1) Atti della Soc. Tosc. di Scienze nat., Mem., 1891, Bd. 12; Kochs Jahresb., Bd. 3, S. 76. ***Čelakowský, L. jun.,** (1) Abh. d. böhm. Akad., 2. Kl., Nr. 32, Prag 1899; ref. in Bot. Centralbl., 1900, Bd. 88, S. 292. ***Certes,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1884, Bd. 99, S. 385. ***Chlopin, G. W., und Tammann, G.,** (1) Z. f. Hyg., 1904, Bd. 45, S. 171. ***Chodat,** (1) Bull. de l'herbier Boissier, 1896, Bd. 4, S. 894. ***Chudiakow, N. von,** (1) Zur Lehre v. d. Anaerobiose, Moskau 1896, Bd. 1; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 389. ***Cohn, F.,** (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1877, Bd. 2. ***Cohn und Mendelsohn,** (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1879, Bd. 3, S. 141. ***Dahlen,** (1) Weinbereitung, Braunschweig 1878. ***Darwin, Fr.,** (1) Bot. Ztg., 1881, Bd. 39, S. 474. ***Dauphin, J.,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 138, S. 154. ***Dieudonné, Aim.,** (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1904, Bd. 9, S. 357. — (2) Ebenda, S. 405. — (3) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 16, S. 965. — (4) Biol. Centralbl., 1895, Bd. 15, S. 103. ***Downes und Blunt,** (1) Proceed. Royal Soc., 1877, Bd. 26, S. 488. — (2) Ebenda, 1878, Bd. 28, S. 197. ***Dubousquet-Labourderie,** (1) L'industrie laitière, 1892, Nr. 15; Kochs Jahresb., 1892, Bd. 3, S. 184. ***Duclaux, E.,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1885, Bd. 100, S. 119; Bd. 101, S. 395. — (2) Ann. Pasteur, 1890, Bd. 4, S. 677. — (3) Ebenda, 1892, Bd. 6, S. 593. ***Duggar,** (1) Bot. Gaz., 1901, Bd. 31, S. 65. ***Elfving,** (1) Beitrag zur Kenntnis der Einwirkung der Schwerkraft auf Pflanzen. Acta Soc. Scient. Fenn., 1880, Bd. 12. — (2) Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze, Helsingfors 1890. ***Engelmann,** (1) Pflügers Archiv, 1883, Bd. 30, S. 95. — (2) Bot. Ztg., 1888, Bd. 46, S. 661. ***Errera, L.,** (1) Bot. Ztg., 1884, Bd. 42, S. 535. — ***Eschenhagen, Fr.,** (1) Ueber den Einfluß von Lösungen verschiedener Konzentration auf das Wachstum von Schimmelpilzen, Diss., Leipzig 1889. ***Evans, R. E.,** (1) J. federated Inst. Brewing, 1898, Bd. 4, S. 249. ***Falck,** (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1902, Bd. 8. ***Fermi, C.,** (1) Arch. f. Hyg., 1891, Bd. 13, S. 206. ***Fichtner,** (1) Weinlaube, Bd. 2, S. 115. ***Ficker, M.,** (1) Z. f. Hyg., 1899, Bd. 29. ***Fischer, A.,** (1) Die Plasmolyse der Bakterien. Sitzgsber. d. K. Sächs. Ges. d. W., Math. Kl., Leipzig 1891. — (2) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 35, S. 1. — (3) Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl., Jena 1903. ***Fischer, B.,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 4, S. 89. — (2) Die Bakterien des Meeres nach den Untersuchungen der Planktonexpedition, Kiel 1894. — (3) D. med. Wochenschr., 1899, S. 614. ***Flügge, C.,** (1) Mikroorganismen, 3. Aufl., I. T., Leipzig 1896. ***Forster,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 2, S. 337. — (2) Ebenda, 1892, Bd. 12, S. 431. ***Foth, G.,** (1) W. f. Brauerei, 1890, S. 51. ***Frankland, P.,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 101. ***Friedenthal, H.,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 19, S. 319. — (2) Ebenda, Bd. 20, S. 505. ***Frisch,** (1) Sitzgsber. d. Wiener Akad., 3. Abt., 1877, Bd. 75, S. 257; 1879, Bd. 80, S. 77. ***Fritsche, C.,** (1) Ueber die Beeinflussung der Circumnutation durch verschiedene Faktoren, Diss., Leipzig 1899. ***Geisler, Th.,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 11, S. 161. ***Globig,** (1) Z. f. Hyg., 1888, Bd. 3, S. 294. ***Gotschlich und Weigand,** (1) Z. f. Hyg., 1895, Bd. 20, S. 3. ***Gottstein, A.** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 19, S. 602. ***Graeger, K.,** (1) Z. f. Spiritusin-

dustrie, 1898, S. 232. ***Gräntz,** Fr., (1) Ueber den Einfluß des Lichtes auf die Entwicklung einiger Pilze, Diss., Leipzig 1898. ***Hänlein,** H., (1) Tharander forstl. Jahrb., 1895, Bd. 45, S. 76. ***Hansen,** Em. Chr., (1) Comptes rendus de Carlsberg, 1879, Bd. 1, S. 94. — (2) Ebenda, 1888, Bd. 2, S. 13. — (3) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 858. — (4) Comptes rendus de Carlsberg, 1898, Bd. 4, S. 93. — (5) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 89. — (6) Ebenda, 1899, Bd. 5, S. 5. ***Havemann,** (1) Ueber d. Wachstum v. Mikroorganismen bei Eisschranktemperatur, Diss., Rostock 1894. ***Henneberg,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 19. ***Herzfeld,** (1) Konservenzeitung, 1904, S. 173. ***Hilbrig,** H., (1) Ueber den Einfluß supramaximaler Temperaturen auf das Wachstum der Pflanzen, Diss., Leipzig 1900. ***Hoffmann,** W., (1) Hyg. Rundschau, 1903, Bd. 13, S. 913. ***Hogarth,** (1) W. f. Brauerei, 1897, S. 325. ***Hoppe-Seyler,** (1) Ueber die Einwirkung des Sauerstoffs auf Gärungen, 1881. ***Horn,** M. E. J., (1) Bot. Gaz., 1896, S. 329. ***Horvath,** A., (1) Pflügers Archiv, 1878, Bd. 17, S. 125. ***Janowski,** Ph., (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 167. ***Karlińskl,** (1) Hyg. Rundschau, 1895, Bd. 5, S. 685. ***Kedzior,** (1) Arch. f. Hyg., 1896, Bd. 27, S. 328. ***Klebs,** H., (1) Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen, Jena 1896. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 32, S. 1. — (3) Ebenda, 1900, Bd. 35, S. 80. — (4) Bot. Ztg., 1902, 2. Abt., S. 174. ***Klein,** L., (1) Bot. Ztg., 1885, Bd. 43, S. 6. ***Klöcker,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 241. ***Klöcker und Schiönning,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 460. ***Kny,** (1) Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 1884, Bd. 2, S. 129. ***Koch,** A., (1) Bot. Ztg., 1888, Bd. 46, S. 277. ***Koch,** R., und **Wolffhügel,** G., (1) Mitt. kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1, S. 301. ***König,** J., und **Remelé,** C., (1) Arch. f. Hyg., 1897, Bd. 28, S. 185. ***Kotljar,** (1) Ref. in Kochs Jahresb., 1892, Bd. 3, S. 77. ***Krüger,** S., (1) Z. f. klin. Med., 1893, Bd. 22, S. 190. ***Kruse,** W., (1) Z. f. Hyg., 1895, Bd. 19, S. 313. ***Kurth,** (1) Bot. Ztg., 1883, S. 409. ***Laxa,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 362. ***Lehmann und Zierler,** (1) Arch. f. Hyg., 1903, Bd. 47, S. 221. ***Lendner,** A., (1) Ann. des scienc. nat., Bot., 1897, 8. sér., Bd. 3. ***Lesage,** P., (1) Ann. des scienc. nat., Bot., 1895, Nr. 5/6; Kochs Jahresb., 1895, Bd. 6, S. 91. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1902, Bd. 133, S. 174. — (3) Ebenda, S. 756. ***Lewandowsky,** F., (1) Arch. f. Hyg., 1904, Bd. 49, S. 47. ***Lohmann,** (1) Ueber den Einfluß des intensiven Lichtes auf die Zellteilung bei Saccharomyces cerevisiae und anderen Hefen, Diss., Rostock 1896. ***Macfadyen,** (1) Proc. Roy. Soc. London, 1900, Bd. 66, S. 180. ***Macfadyen und Blaxall,** (1) Transactions of the Jenner institute of prevent. med., 1899, 2. ser., S. 207. ***Macfadyen und Rowland,** (1) Proc. Roy. Soc. London, 1900, Bd. 66, S. 339 und 488. ***Martinand,** V., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 113, S. 782. ***Massart,** (1) Arch. de Biol., 1889, Bd. 9, S. 547. ***Maximow,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 193 u. 261. ***Melsens,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1870, Bd. 70, S. 631 u. 831. ***Meltzer,** S. J., (1) Z. f. Biol., 1894, Bd. 30, S. 464. ***Michaelis,** G., (1) Arch. f. Hyg., 1900, Bd. 36, S. 285. ***Migula,** W., (1) System der Bakterien, Bd. 1, Jena 1897. ***Minck,** (1) Münch. med. Wochenschr., 1896, S. 101. ***Miquel,** (1) Ann. de microgr., 1888, Bd. 1, S. 3. ***Molisch,** (1) Das Erfrieren der Pflanzen, Jena 1897. ***Müller,** M., (1) Arch. f. Hyg., 1903, Bd. 47, S. 126. ***Nägeli,** C. **von,** (1) Theorie der Gärung, München 1879. ***Noll,** F., (1) Flora, 1893, Bd. 77, S. 32. ***Nordhausen,** (1) Jahrb. wiss. Bot., 1899, Bd. 33, S. 29. ***Nourry,** Cl., und **Michel,** C., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 112, S. 667. ***Oprescu,** V., (1) Arch. f. Hyg., 1898, Bd. 33, S. 164. ***Pedersen,** R., (1) Comptes rendus de Carlsberg, 1878, Bd. 1, S. 22. ***Pfeffer,** W., (1) Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Bd. 2, Leipzig 1904. ***Pictet und Yung,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1884, Bd. 98, S. 747. ***Pringsheim,** (1) Jahrb. wiss. Bot., 1879, Bd. 12, S. 288. ***Prochownik und Späth,** (1) Deutsch. med. Wochenschr., 1890, Nr. 26. ***Rabinowitsch,** L., (1) Z. f. Hyg., 1895, Bd. 20, S. 154. ***Raum,** J., (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 6, S. 312. ***Ray,** J., (1) Revue génerale de bot., 1897, Bd. 9. ***Reinhardt,** O. M., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1892, Bd. 23, S. 479. ***Reinke,** J., (1) Pflügers Archiv, 1880, Bd. 23, S. 434. ***Richardson,** A., (1) Journ. Chem. Soc., Transactions, 1893, Bd. 63, S. 1109. ***Richet,** Ch., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 138, S. 588. ***Rieder,** H., (1) Münchn. med. Wochenschr., 1898, S. 101. ***Rindfleisch,** (1) Virchows Archiv, 1873, Bd. 54. ***Roger,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1894, Bd. 119, S. 963. ***Roser,** (1) Beitr. z. Biol. d. niedersten Organismen, Marburg 1881. ***Russel,** H. L., (1) Z. f. Hyg., 1891, Bd. 11. — (2) Bot. Gaz., 1892, Nr. 1. ***Sabrazès,** J., und **Bazin,** E., (1) Comptes rend. de la soc. de biol., 1893, S. 909. ***Sames,** (1) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 33, S. 313. ***Schaffer,** F., und **Freudenreich,** Ed. **von,** (1) Ann. de microgr., 1891, Bd. 4, S. 105. ***Schardinger,** (1) Z. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, 1903, Bd. 6, S. 865. ***Schenk,** (1) Allgem. Wiener med. Ztg., 1892, S. 81. ***Schiel,** (1) Deutsch. Arch. f. klin. Med., 1875, Bd. 15, S. 190. ***Schillinger,** (1) Hyg. Rundschau, 1898, S. 568. ***Schmidt,** B., (1) Arch. f. Hyg., 1891, Bd. 13, S. 247. ***Schmidt-Nielsen,** Sigv., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 9, S. 145. ***Schreiber,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 20, S. 353. ***Schröder,** (1) Untersuchungen a. d. bot. Inst. Tübingen, 1886. Bd. 2. ***Schrohe,** A.,

(1) W. f. Brauerei, 1891, Bd. 8, S. 706. ***Schumacher**, E., (1) Sitzgsber. d. Wiener Akad., 1874, Bd. 70, Abt. I, S. 157. ***Scoutetten**, (1) Ann. d. Oenologie, 1872, Bd. 2, S. 108. ***Seckt**, H., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1898, Bd. 20, S. 87. ***Sommer**, (1) Weinlaube, Bd. 2, S. 65. ***Spilker**, W., und **Gottstein**, A., (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 9, S. 77. ***Stameroff**, (1) Flora, 1897, Bd. 83, S. 135. ***Strebel**, (1) Deutsche med. Wochenschr., 1901, S. 69. ***Teich**, (1) Hyg. Rundsch., 1895, Bd. 5, S. 685. ***Terrel des Chênes**, (1) Ann. d. Oenologie, 1873. Bd. 3, S. 87. ***Thiele**, R., (1) Die Temperaturgrenzen der Schimmelpilze in verschiedenen Nährlösungen, Diss., Leipzig 1896. ***Thiele**, H., und **Wolf**, C., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt, 1899, Bd. 25, S. 650. ***Tolomei**, G., (1) Atti della Acad. dei Lienci, 1893, 5. ser., Bd. 1, S. 320. ***Townsend**, C. O., (1) Annals of botany, 1897, Bd. 11. ***Trzebinski**, J., (1) Influence des irritations sur la croissance de la moisissure Phycomyces nitens. Comptes rend. de l'Ac. d. sc. de Cracovie, 1902; ref. in Bot. Centralbl., 1902, Bd. 40, S. 624. ***Tsiklinsky**, (1) Ann. Pasteur, 1899, Bd. 13, S. 788. ***Tumas**, L., (1) Petersb. med. Wochenschr., 1882, Nr. 18. ***Vines**, (1) Arb. d. bot. Inst. zu Würzburg, 1878, Bd. 2, S. 137. ***Vollmar**, (1) Weinlaube, Bd. 7, S. 137; Weinbau, Bd. 3, S. 186. ***Ward**, Marshall, (1) Proc. Roy. Soc. London, 1892; Kochs Jahresb., 1892, Bd. 3, S. 77. — (2) Ebenda 1893; Kochs Jahresb., 1893, Bd. 4, S. 122/123. — (3) Ebenda, 1894; Kochs Jahresb., 1894, Bd. 5, S. 100. — (4) Ebenda, 1895, Bd. 58, S. 1. ***Webster**, W., (1) Chem. Centralbl., 1891, Bd. I, S. 336. ***Wiesner**, J., (1) Sitzgsber. d. Wiener Akad., 1878, Bd. 47, 1. Abt., S. 9. ***Will**, (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1895, Bd. 18, S. 1 u. 217; 1898, Bd. 21, S. 443; 1899, Bd. 22, S. 151; 1902, Bd. 25, S. 241. ***Wittlin**, J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt, 1896, Bd. 2, S. 676. ***Wortmann**, J., (1) Bot. Ztg., 1881, Bd. 39, S. 368.

(Manuskript-Einlauf: 30. April 1904.)

17. Kapitel.

Beeinflussung der Wachstumsrichtung (Krümmungs- und Richtungsbewegungen).

Von Prof. Dr. J. Behrens.

§ 103. Allgemeines über Krümmungs- und Richtungsbewegungen.

Es ist schon im vorhergehenden Kapitel angeführt worden, daß die Zuwachsbewegung im allgemeinen keineswegs eine einfach geradlinig fortschreitende ist, sondern daß die Spitze der Pilzfäden eine mehr oder weniger verwickelte Raumkurve beschreibt: Sie circumnutiert, weil das Längenwachstum in der wachsenden Region nicht im ganzen Umfang des Pilzfadens gleichmäßig erfolgt, sondern bald an dieser, bald an jener Flanke infolge innerer unbekannter Vorgänge beschleunigt wird. Die Circumnutation ist eine aus inneren Ursachen erfolgende, autonome Bewegung. Wie Fritsche (1) gezeigt hat, dauert bei *Phycomyces nitens* die Circumnutation auch fort, wenn alle äußeren Faktoren, welche sie hervorrufen oder beeinflussen könnten, eliminiert werden. Sie bildet also den Typus der autonomen Bewegungen. Diesen gegenüber stehen die aitiogenen oder induzierten Bewegungen, welche nur unter dem Einfluß bestimmter äußerer Faktoren erfolgen, von äußeren Bedingungen verursacht werden. Unter ihnen sind wieder zu unterscheiden die Krümmungsbewegungen, welche von allseitig gleichmäßig einwirkenden, diffusen Kräften verursacht werden, und die Richtungs- oder Orientierungsbewegungen, welche unter der Einwirkung

einseitig wirkender Ursachen erfolgen. Soweit bekannt, werden bei den hier in Betracht kommenden Pilzen alle Reaktionsbewegungen durch Wachstum ausgeführt. Variationsbewegungen, Bewegungen infolge von Turgorschwankungen oder Aenderungen der Elastizität der Membranen, sind unbekannt. 5

Wir kommen nun auf die Circumnutation als den Typus der autonomen Wachstumsbewegungen zurück. Unbeschadet des autonomen Charakters der Circumnutation findet nach FRITSCHE doch eine gewisse Beeinflussung der Bewegung durch die äußeren Verhältnisse statt. Unter gewöhnlichen Verhältnissen äußerst unregelmäßig, scheint sich bei völliger 10 Konstanz der äußeren Faktoren die Projektion der Raumkurve, welche der Gipfel des wachsenden Sporangiumträgers von *Phycomyces* beschreibt, der Ellipsenform zu nähern. Mit steigender Temperatur, mit der auch die Wachstumsintensität zunimmt, wird die Bahn des wachsenden Sproßgipfels größer und unregelmäßiger gestaltet und wird die Umlaufs- 15 geschwindigkeit erhöht. Ebenso wirken Schwankungen in der Zusammensetzung und Konzentration des Nährsubstrats, ferner Verletzungen und mechanische Wachstumshemmungen in gleichem Sinne auf die Circumnutationsbewegung wie auf den Gang des Wachstums. Die autonomen Bewegungen der Stolonen von *Rhizopus nigricans* hat WORT- 20 MANN (1) bereits im Jahre 1881 untersucht. Diese stellen nach FRITSCHE bei Ausschaltung der Schwerkraftwirkung, am Klinostat rotierend, ihre typische Nutation nach einiger Zeit ein und vollführen dann nur noch geringe und unregelmäßige Krümmungsnutationen, ähnlich wie windende Pflanzen. *Phycomyces nitens* wurde vor FRITSCHE bereits von FR. DARWIN (1) 25 untersucht. REINHARDT (1) beobachtete autonome Nutationen an anderen Pilzen (Pezizen u. dgl.), so daß an der Verbreitung der Circumnutation unter den Fadenpilzen ein Zweifel nicht gehegt werden kann. Große Aehnlichkeit mit den vielfach untersuchten autonomen Nutationen der Spirogyren haben die Krümmungen und Biegungen fädiger Bakterien, 30 wie sie WARD (1) für den *Bacillus ramosus*, MIGULA (1) für *Chlamydothrix ferruginea* (EHRENBERG) MIG. beschreiben. Eine gewisse äußere Aehnlichkeit mit den Bewegungen der Spirogyren haben auch die der Spirochaeten, wenn allerdings auch die Ursache bei den letzteren mit Wachstumsnutationen kaum etwas gemeinsam haben dürfte. 35

Krümmungsbewegungen in dem oben definierten Sinne sind bei den hierher gehörigen Organismen bisher nicht bekannt. Alle Reaktions- oder induzierten Bewegungen derselben gehören vielmehr zu den Orientierungs- oder Richtungsbewegungen, zu den tropistischen Bewegungen, und werden nach den Ursachen, welche als Reize sie auslösen, als Er- 40 scheinungen des Photo-, Geo-, Thermo-, Hydrotropismus usw. unterschieden. Die tropistischen Bewegungen sind ausnahmslos Folgen einer Unterschiedsempfindlichkeit der Pflanzen. Meist wenden dieselben sich von dem Orte mit weniger günstigen Bedingungen zu dem, wo günstigere Bedingungen verwirklicht sind, hin. Das hat insbesondere OLTMANNS (1) 45 für den Phototropismus nachgewiesen, gilt aber ebenso für Chemo- und Osmotropismus usw. Soweit es sich um Unterschiedsempfindlichkeit handelt, folgt dieselbe dem WEBER'schen Gesetz, nach welchem im allgemeinen zwischen dem schon wirksamen Reiz und dem Reizzuwachs ein bestimmtes und ziemlich konstantes Verhältnis bestehen muß, um 50 noch eine Reaktion auszulösen. In je hellerem Lichte z. B. ein phototropisch empfindlicher Organismus sich befindet, ein um so größerer Helligkeitsunterschied muß auf ihn einwirken, um noch eine photo-

tropische Wachstumskrümmung auszulösen: Die Reizschwelle wächst mit der Intensität des Reizes, der auf den Organismus bereits wirkt.

Die Empfindlichkeit einer Pflanze für irgend einen äußeren oder inneren Einfluß wird durch das Eintreten der Reaktion, der tropistischen 5 Wachstumsbewegung, bewiesen. Es ist indessen auch denkbar und sicher unter Umständen auch verwirklicht, daß der Reiz von der Pflanze wohl empfunden, perzipiert wird, daß aber die Reaktion ausbleibt. Künstlich konnte STEYER (1) z. B. Perzeption und Reaktion bei den geotropisch sehr empfindlichen Fruchtträgern von *Phycomyces* trennen, indem er sie 10 in Aether- oder Chloroformnarkose versetzte. War die Menge des Anästhetikums richtig gewählt, so wurde in der Narkose der Schwerkraftreiz von den horizontal gelegten Fruchtträgern wohl empfunden, aber die Aufrichtung unterblieb. Die erfolgte Perzeption wurde dadurch bewiesen, daß nach Entfernung des Anästhetikums an den wieder in 15 Normalstellung übergeführten Fruchtträgern eine deutliche Nachwirkung des Reizes in Form einer entsprechenden Wachstumskrümmung eintrat.

Kurz hingewiesen sei noch auf jene nur teilweise in das Gebiet der Lebenserscheinungen gehörenden Bewegungen an Fruchtträgern und sonstigen fruktifikativen Organen, welche der Sporenverbreitung dienen. 20 Bezüglich des Näheren sei auf die zusammenhängende Darstellung bei DE BARY (1) verwiesen. Hier sei nur erwähnt, daß es sich zum großen Teil um Mechanismen handelt, bei denen der Turgor die zur Verbreitung der Sporen erforderliche Kraft liefert. Dadurch werden z. B. die reifen Sporangien des gemeinen Mistpilzes *Pilobolus crystallinus* (s. S. 207) unter 25 Umständen mit solcher Energie fortgeschleudert, daß sie bis zu einem Meter hoch fliegen. Es geschieht das dadurch, daß die Membran an der Grenze von Sporangium und Trägerzelle allmählich verquillt, so daß schließlich unter dem Turgor der Trägerzelle die Membran dort reißt, und der herausspritzende Inhalt das Sporangium fortschleudert. Aehn-30 lich ist der Mechanismus bei den Sporenschläuchen vieler Ascomyceten. Durch Belichtung zuvor verdunkelter Pflanzen wird die Ejakulation der Sporen bei den Ascomyceten und das Fortschleudern der Sporangien bei *Pilobolus* gefördert. Bei *Botrytis* werden die Sporen durch Drehbewegungen abgeschleudert, welche der Konidienträger beim Austrocknen 35 und ebenso beim Wiederbefeuchten ausführt, die aber natürlich nicht in das Gebiet der Lebensvorgänge gehören.

§ 104. Phototropismus, Thermotropismus, Chemotropismus und Osmotropismus.

Phototropische Bewegungen sind für viele Pilze bekannt. Positiv 40 heliotropische Bewegungen führen die Hutstiele von *Coprinus*-Arten (BREFELD [1]), die Apothecienstiele der zu *Botrytis* gehörigen *Peziza Fuckeliana* (WINTER [1]), die Sporangienträger vieler Mucorineen (nach HOFMEISTER [1], VINES [1], BREFELD [2], NOLL [1], STEYER [1]) aus. Das Mycel dieser Pilze scheint phototropisch dagegen nicht empfindlich 45 zu sein. OLTMANNS hat die phototropische Empfindlichkeit der Fruchtträger von *Phycomyces nitens* eingehender untersucht und zunächst (1) nachgewiesen, daß, wie bei anderen phototropisch reizbaren Pflanzen, nicht die Richtung der Lichtstrahlen, sondern der Unterschied der Helligkeit auf verschiedenen Seiten des Sporangiumträgers den Bewegungs-50 reiz auslöst. Die Bewegung wird so ausgeführt, daß das Sporangium

dem Optimum der Lichtintensität zugeführt wird. OLTMANNS bezeichnet deshalb die hierher gehörigen Bewegungen auch als photometrische, die Eigenschaft der Pflanzen, solche auszuführen, als Photometrie. Befindet sich der Träger bereits im Helligkeitsoptimum, so erfolgt keine Bewegung, weder nach der helleren noch nach der weniger hellen Seite 5 hin. Das Helligkeitsoptimum beträgt für die Sporangienträger von *Phycomyces* nach OLTMANNS' (2) Versuchen ca. 25000 HEFNER-Einheiten, während für Kressen- und Gerstenkeimlinge das Helligkeitsoptimum erst bei 500000—600000 HEFNER-Einheiten liegt. Bei Ueberschreitung des Helligkeitsoptimums wird der Sporangienträger eine negativ heliotropische, 10 apheliotropische Krümmung ausführen, um in das Optimum zu gelangen. Für jüngere Fruchtträger, deren Köpfchen noch gelb sind, liegt das Helligkeitsoptimum etwas höher (50000—100000 HEFNER-Einh.), für alte Fruchtkörper etwas niedriger, so daß sie bei derartigen Versuchen leichter negativ reagieren. 15

Besonders wirksam sind bei der Auslösung phototropischer Bewegungen die am stärksten brechbaren Strahlen des Spektrums. Ein zweites kleineres Maximum der Wirksamkeit liegt im Ultrarot, während das Minimum im Gelb liegt. Doch erleidet diese von WIESNER (1) gefundene Gesetzmäßigkeit in Einzelfällen gewiß mancherlei Modifikationen. Solche werden an- 20 gedeutet, wenn *Pilobolus microsporus* nach BREFELD (2) und GRÄNTZ (1) in der schwächer brechbaren Hälfte des Spektrums, wie sie von Kaliumbichromatlösung durchgelassen wird, sich fast ebenso schnell phototropisch krümmt wie in der stärker brechbaren Hälfte, hinter Kupferoxydammoniak.

Die Gültigkeit des WEBER'schen Gesetzes bei phototropischer Reizung 25 hat bereits MASSART (1) für *Phycomyces*-Fruchtträger nachgewiesen. Die Unterschiedsschwelle beträgt nach ihm hier ein Fünftel der vorhandenen Lichtintensität.

Es ist bereits erwähnt worden, daß nach WIESNER auch die ultraroten, also die Wärmestrahlen, tropistische Bewegungen hervorzurufen 30 vermögen. Für die Sporangienträger von *Phycomyces nitens* glaubte WORTMANN (2) Thermotropismus, hervorgerufen durch die Wärmestrahlen einer heißen Eisenplatte, annehmen zu müssen. Nach STEYER (1) reagieren die *Phycomyces*-Fruchtträger indessen nicht thermotropisch und handelt es sich bei den positiven Ergebnissen, die WORTMANN erhalten zu haben 35 glaubte, wahrscheinlich um phototropische Erscheinungen.

Für die mit wenigen Ausnahmen auf organische Stoffe als Kohlenstoffquelle angewiesenen Gärungsorganismen ist naturgemäß die richtende Einwirkung von besonderer Bedeutung, die lokale Differenzen in der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens auf sie ausüben. Der 40 Einfluß, den gelöste Stoffe in dieser Beziehung auf die Wachstumsrichtung und, wie hier gleich hervorgehoben sein mag, auch auf die Bewegungsrichtung beweglicher Organismen haben, ist ein zweifacher, einmal ein rein chemischer, neben der Eigenart des vorliegenden Organismus nur von der Natur des Körpers, und zweitens ein von der Konzentration des 45 Körpers, dem von ihm hervorgebrachten osmotischen Druck, abhängiger. Beide Reizwirkungen, die chemotropische und die osmotropische, sind unter natürlichen Verhältnissen unlösbar verbunden. Daß sie indes verschieden sind, haben MASSART (2) und ROTHERT (1), allerdings zunächst nur für die taktischen Reizerscheinungen der beweglichen Orga- 50 nismen, gezeigt, worauf im folgenden Kapitel zurückzukommen sein wird. Das für taktische Reizerfolge Festgestellte darf ohne weiteres auf die tropistischen Bewegungen übertragen werden, obwohl für diese die

bezüglichen Verhältnisse noch nicht genauer untersucht, und Osmotropismus und Chemotropismus noch nicht genügend unterschieden sind. Das Verhalten gegen Kalisalpeter, der abstoßend wirkt, faßt MIYOSHI als negativen Osmotropismus auf.

5 Der Chemotropismus der Fadenpilze ist, nachdem bereits PFEFFER (1) auf einige auf seine Existenz hindeutende Tatsachen aufmerksam gemacht, und auch bereits REINHARDT (1) bei Gelatinekulturen von *Peziza* Ablenkung der Hyphen durch Nährgelatinestücke mit höherem Zuckergehalt beobachtet, ferner BÜSGEN (1) die Anlockung von *Botrytis*-Hyphen durch Blattstücke 10 von *Begonia* erwähnt hatte, erstmals 1894 von MIYOSHI (1) eingehender untersucht worden. MIYOSHI prüfte die Pilze *Mucor mucedo*, *Rhizopus nigricans*, *Phycomyces nitens*, *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger*, in der späteren Arbeit (2) 15 auch *Botrytis cinerea* und zwar zunächst in der Weise, daß er die Sporen auf ein mit Nährlösung injiziertes Blatt oder auf durchlöcherten Collodiumhäutchen oder 20 Glimmerblättchen aussäte, die über einer Nährgelatine lagen: Die Keimschläuche wurden dann stets nach den Spaltöffnungen (*Fig. 66*) bzw. den Löchern hin abgelenkt, 25 drangen bündelweise in diese ein und verbreiteten sich von dort aus in dem Nährmedium. Vielfach variierte Versuchsanordnung machte es zweifellos, daß nur der verschie- 30 dene Gehalt an Nährstoffen — meist wurden verschiedene Zuckerkonzentrationen zu beiden Seiten der trennenden Membran verwendet — die Orientierungsbewegung der Keimschläuche herbeiführte. Mit Abnahme der Konzentrationsdifferenz des wirksamen Stoffes nimmt natürlich auch der Effekt ab. Bei Keimung im 35 Wasser wurde die erste positive Ablenkung der Keimschläuche von *Rhizopus nigricans* bei einem Traubenzuckergehalt von 0,01 Proz. beobachtet; die Wirkung stieg bis zu einem Maximum bei Erhöhung des Zuckergehalts, um von 5—10 Proz. ab wieder schwächer zu werden und bei noch weiterer Steigerung, bei ca. 50 Proz., einer ausgesprochen 40 negativ chemotropischen Reaktion Platz zu machen. Die chemotropische Wirkung der Stoffe ist nach MIYOSHI von ihrem Nährwert unabhängig: So übt Glycerin kaum eine chemotropische Wirkung aus. Anlockend wirken außer den Zuckerarten Ammoniumsalze, Phosphate, Fleischextrakt, Pepton, Asparagin usw. Dagegen wirken Kalisalpeter, Kochsalz, 45 Chlorkalium, Calciumnitrat schon in geringer Konzentration negativ chemotropisch, repulsiv auf die Pilzhyphen. Dasselbe tun alle freien organischen und anorganischen Säuren, Alkalien, Alkohol usw. Um noch Ablenkung hervorzurufen, muß nach MIYOSHI's (allerdings mit *Saprolegnia* angestellten) Versuchen das Verhältnis des Zuckergehalts auf der einen 50 zu dem auf der anderen (ablenkenden) Seite wie ca. 1 : 10 sein. Das WEBER'sche Gesetz gilt also auch für die chemotropische Reizbarkeit der Pilze. Daß die wachsenden Pilzhyphen auch relativ große Widerstände überwinden, um den chemotropischen Reizen zu folgen, hat

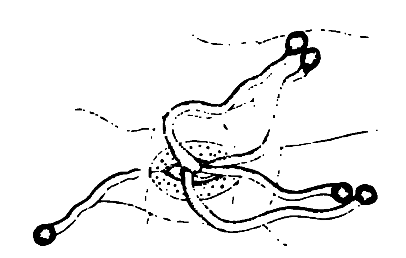


Fig. 66. *Rhizopus nigricans.* Die Keimschläuche von 5 Sporen, die vor 27 Stunden auf die Unterseite eines mit zweiprozentiger Chlorammoniumlösung injizierten Blattes von *Tradescantia discolor* ausgesät worden sind, streben chemotropisch der Spaltöffnung zu und treten durch diese hindurch in das Innere des Blattgewebes ein. — Vergr. 100. Nach MIYOSHI.

Miyoshi (2) in Versuchen gezeigt, bei denen er zur Trennung der verschiedenen Nährmedien kontinuierliche, nicht durchbohrte Membranen verwandte, durch welche die Diffusion stattfinden mußte (künstliche Cellulosemembranen, spaltöffnungsfreie Epidermen, Goldhäutchen u. dgl.): Unter dem Druck der chemotropisch abgelenkten Hyphenspitze können 5 solche Membranen von der Hyphe durchbrochen werden, falls die Hyphe ein geeignetes Widerlager findet oder, durch Appressorienbildung infolge von Kontaktwirkung, selbst sich schafft. Eine Unterstützung des mechanischen Drucks durch chemische Hilfsmittel, celluloselösende Enzyme, welche bei der Durchbohrung von Cellulosemembranen helfend eingreifen könnten, 10 ist bei Goldhäutchen, Collodiumhäuten u. dgl. ausgeschlossen. Bei Versuchen mit Glasnadeln erwies sich zur Durchbohrung einer 0,18 mm dicken Collodiumhaut ein Druck von 7,4 Atmosphären als notwendig, der also unter Umständen von Pilzen erzeugt werden kann. Auch Kalklamellen werden nach Lind (1) von Pilzen (*Aspergillus niger*, *Penicillium* 15 *glaucum*, *Botrytis cinerea)* bei chemotropischer Reizung durchbohrt. Die Pilzfäden dringen in kompaktes Kalkgestein und Knochen ein, wenn diese chemotrop wirkende, anlockende Stoffe enthalten. Die mechanische Wirkung der Fäden wird bei dem Angriff auf Kalk- und Knochensubstanz durch die chemische Wirkung der sezernierten Säure (haupt- 20 sächlich Oxalsäure) unterstützt. Wahrscheinlich beruht auf chemotropischer Reizung auch das Eindringen von Bakterien in die Zahnsubstanz bei der Karies der Zähne. Im übrigen ist der Chemotropismus der fädigen Bakterien bisher noch nicht Gegenstand einer Untersuchung gewesen. 25

Ein Spezialfall des Chemotropismus ist der von Molisch unterschiedene Aerotropismus. Steyer (1), der das Verhalten der Sporangienträger von *Phycomyces nitens* gegenüber einseitiger Ansammlung von Kohlensäure beobachtete, fand eine aerotropische Reaktion bei diesen Versuchen nicht. 30

Es ist beinahe selbstverständlich, daß die chemotropische Reizbarkeit der Pilzfäden im praktischen Leben eine große Rolle spielt. Insbesondere greift der Chemotropismus ganz wesentlich beim Zustandekommen von pilzlichen Pflanzenkrankheiten ein, worüber auf die Arbeiten von Nordhausen (1) und Behrens (1) verwiesen sei. Ebenso aber 35 kommt er zur Geltung beim Auftreten von Pilzen auf toten organischen Stoffen. Ein besonders interessantes Beispiel ist das unter den Weinkrankheiten zu behandelnde Durchwachsen von Pilzfäden durch den Korkstopfen gefüllter, liegend aufbewahrter Weinflaschen, das zum Teil den sog. Stopfengeschmack der Flaschenweine hervorruft. 4

§ 105. Hydrotropismus, Geotropismus und andere Reaktionen. Eigenrichtung und Substratrichtung.

Insofern mit dem Osmotropismus verwandt, als es sich in beiden Fällen um Richtungsreize infolge von Verschiedenheiten im Wassergehalt des Mediums handelt, ist der Hydrotropismus. Wie beim positiven 45 Osmotropismus solche Regionen des umgebenden Mediums aufgesucht werden würden, in denen dem Organismus Wasser entzogen wird, beim negativen solche, in denen die Wasseraufnahme nicht beschränkt ist, so wenden positiv hydrotropische Organe sich solchen Stellen des Mediums zu, in denen Wasser reichlich vorhanden ist, negativ hydrotropische 50

Organe dagegen solchen, in denen Wasserarmut herrscht und Wasserverlust durch Transpiration möglich ist. Beim Hydrotropismus ist der Wasserentzug durch Transpiration, beim Osmotropismus der durch Exosmose maßgebend.

5 Positiven Hydrotropismus dürften, wie die Wurzeln der höheren Pflanzen, die Mycelien mancher Fadenpilze besitzen. Negativer Hydrotropismus ist für einige Fruchtträger nachgewiesen worden, so von WORTMANN (1), DIETZ (1) und STEYER (1) für die Sporangienträger von *Phycomyces nitens* und anderen Mucorineen, von MOLISCH (1) für 10 die Hutstiele von *Coprinus velaris*. STEYER hat auch nachgewiesen, daß bei bestimmtem mittlerem Feuchtigkeitsgehalte der Luft, also in gewisser Entfernung von einer nassen Fläche, die Fruchtträger sich diahydrotropisch verhalten, sich parallel zur feuchten Wand stellen, und daß bei noch größerer Entfernung sogar eine positiv hydrotropische Krümmung zur 15 Feuchtigkeitsquelle hin eintritt. Den von KLEBS (1) beobachteten negativen Hydrotropismus der Sporangienträger von *Sporodinia grandis* hat FALCK (1) bezweifelt. Auf negativen Hydrotropismus wird es auch zurückgeführt, wenn in kleineren *Phycomyces*-Rasen die dicht stehenden Fruchtträger divergieren, und nach ERRERA (2) ist auch die von 20 ELFVING (1) zuerst beobachtete eigenartige Einwirkung von Metallen auf *Phycomyces*-Fruchtträger als Folge des negativen Hydrotropismus zu erklären. ELFVING hatte gezeigt, daß die Fruchtträger von *Phycomyces* durch Metallplatten angezogen werden, und ERRERA sowie nach ihm STEYER (1) haben es allerdings wahrscheinlich gemacht, daß diese rätsel-25 hafte Fernwirkung, wenigstens bei Verwendung gewisser Materialien, speziell Eisen und Zink, auf die Hygroskopizität derselben und damit auf den negativen Hydrotropismus des Pilzes zurückzuführen ist. ERRERA fand bei seinen Untersuchungen, daß unter solchen Verhältnissen hydrotropische Krümmungen auch in dampfgesättigtem Raume stattfinden 30 können, und ist zu dem Schlusse geneigt, daß bei den psychrometrischen Krümmungen die Ungleichheit der Transpiration auf verschiedenen Seiten der Hyphe die Veranlassung zum Eintreten der Krümmung sei. Unerklärt bleibt indes die von ELFVING (2) weiter beobachtete Tatsache, daß auch zu erwärmten Platinplatten, bei denen von Hygroskopizität 35 nicht die Rede sein kann, also unter Umständen, wo Hydrotropismus ausgeschlossen ist, positive Krümmung von *Phycomyces*-Fruchtträgern eintritt.

Eine große Rolle spielt nach STEYER's Untersuchungen der negative Hydrotropismus beim Zustandekommen der erstmals von SACHS (1) unter-40 suchten Substratrichtung, die darin besteht, daß die Fruchtträger von *Phycomyces* und anderen Pilzen sich regelmäßig senkrecht auf das Substrat stellen, auch wenn der Einfluß von Licht und Schwerkraft ausgeschlossen wird.

Die Schwerkraft spielt bei den hier in Betracht kommenden Organismen 45 eine geringe Rolle. Speziell die Mycelien der Pilze und die Ausläufer von *Rhizopus nigricans* reagieren nicht merklich geotropisch. Dagegen sind stark negativ geotropisch die Sporangienträger vieler Mucorineen (*Mucor mucedo*, *Phycomyces nitens* u. a.), die nach den Untersuchungen von HOFMEISTER (1), SACHS (1), WORTMANN (1), DIETZ (1) und STEYER (1) 50 bei Entfernung aus ihrer normal aufrechten Stellung sich energisch aufwärts krümmen. Noch weniger ist über einen Einfluß der Schwerkraft auf die Wachstumsorientierung von Fadenbakterien zu sagen. Nur bei *Bacterium (Bacillus) Zopfii* haben BOYCE und EVANS (1) negativen

Geotropismus beobachtet: Bei Stichkulturen in Nährgelatine, die senkrecht aufgestellt wurden, wuchs der Organismus in zahlreichen schräg nach oben gerichteten vom Stichkanal allseitig ausstrahlenden Fasern. Bei horizontaler Lagerung der Röhrchen trat die Erscheinung nicht ein. Wurde die Schwerkraft durch die Zentrifugalkraft ersetzt, indem 5 die Kulturröhrchen in der Richtung des Radius auf einer in schnelle Umdrehung versetzten Scheibe befestigt wurden, so wuchs das Bakterium in ebenso schief nach innen gerichteten Strahlen, die vom Stichkanal etwas divergierten. BEIJERINCK (1) hat die Deutung dieses Verhaltens als Folge von negativem Geotropismus bestritten, indessen, wie neuer- 10 dings ZIKES (1) gezeigt hat, mit Unrecht. Da es sich um Wachstum in starrem Medium handelt, dürften geotropische (Wachstums-), nicht geotaktische (Orts-) Bewegungen in Betracht kommen.

Haptotropismus, Wachstumskrümmungen infolge von Berührung mit einem festen Körper, zeigen nach ERRERA (1), WORTMANN (3) und STEYER (1) 15 die Fruchtträger von *Phycomyces nitens*, *Mucor mucedo*, *Rhizopus nigricans* u. a. Wird die wachsende Spitze mit einem festen Körper berührt, so stellt sich nach kürzerer oder längerer Zeit eine Wachstumskrümmung nach der gereizten Seite hin ein. Auf den Folgen solcher Berührungsreize beruht wohl auch das oft beobachtete gegenseitige Umschlingen 20 schwächerer Fruchtträger bei *Phycomyces*. Die Mycelien von *Phycomyces* zeigen keinerlei haptotropische Empfindlichkeit.

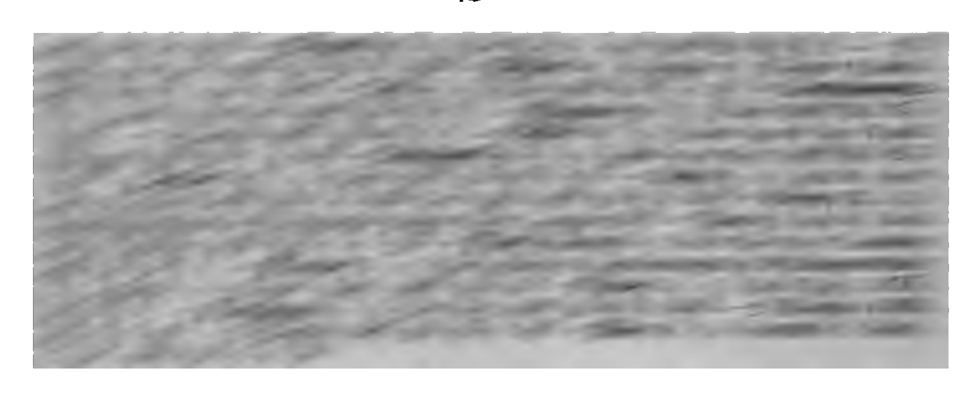
Rheotropismus, d. h. die Fähigkeit, auf den einseitigen Angriff von strömendem Wasser durch Wachstumskrümmungen zu reagieren, wies JÖNSSON (1) für Pilze nach. Nach ihm ist das Mycel von *Phycomyces* 25 und *Mucor* negativ, von *Botrytis cinerea* vorwiegend positiv rheotropisch.

Bei der Einwirkung elektrischer Strahlen (HERTZ'scher Wellen) auf Fruchtträger von *Phycomyces* erhielt HEGLER (1) negative Krümmungen, während sie STEYER (1) gegen die einseitige Einwirkung elektrischer Spannungen unempfindlich fand. 30

Literatur

zum Kapitel Beeinflussung der Wachstumsrichtung (Krümmungs- und Richtungsbewegungen).

***Bary,** A. de, (1) Vgl. Morphol. u. Biol. d. Pilze, Leipzig 1884. ***Behrens,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 514. ***Beijerinck,** M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 799. ***Boyce,** R., **und Evans,** E., (1) Proc. Roy. Soc. London, 1893, Bd. 54, S. 300. ***Brefeld,** O., (1) Untersuchungen über Schimmelpilze, 1877, Bd. 3. — (2) Ebenda, 1881, Bd. 4. ***Büsgen,** M., (1) Bot. Ztg., 1. Abt., 1893, Bd. 51, S. 53. ***Darwin,** Fr., (1) Bot. Ztg., 1881, Bd. 39, S. 474. ***Dietz,** S., (1) Unters. aus d. bot. Inst. Tübingen, 1888, Bd. 2. ***Elfving,** F., (1) Ueber physiol. Fernwirkung einiger Körper, Helsingfors 1890. — (2) Zur Kenntnis pflanzl. Irritabilität; Ofversigt of Finska Vet.-Soc. Forhandlingar, 1893, Bd. 36. ***Errera,** L., (1) Bot. Ztg., 1884, Bd. 42, S. 497. — (2) Ann. of bot., 1892, Bd. 6, Nr. 24. ***Falck,** (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1901, Bd. 8. ***Fischer von Waldheim,** Al., (1) Arb. d. bot. Lab. d. Kais. Univ. Warschau, 1875, Bd. 1; Bot. Ztg., 1876, Bd. 34, S. 479. ***Fritsche,** C., (1) Ueber die Beeinflussung der Nutation durch verschiedene Faktoren, Diss., Leipzig 1899. ***Gräntz,** Fr., (1) Ueber den Einfluß des Lichtes auf die Entwicklung einiger Pilze, Diss., Leipzig 1898. ***Hansen,** Em. Chr., (1) Bot. Centralbl., 1898, Bd. 74, S. 114. ***Hegler,** R., (1) Physiol. Wirkung Hertzscher Elektr.-Wellen auf Pflanzen; Verh. d. D. Naturf. u. Aerzte in Halle, 1891. ***Hofmeister,** W., (1) Pflanzenzelle, Leipzig 1867. ***Jönsson,** B., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1883, Bd. 1, S. 512. ***Klebs,** G., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 32, S. 1. ***Kny,** L., (1) Sitzgsber. d. bot. Ver. f. Brandenburg, 12. Juni 1881. ***Kraus,** G., (1) Sitzgsber. d. Naturf. Ges., Halle 1876; Bot. Ztg., 1876, Bd. 34, S. 505. ***Lind,** K., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 32, S. 603. ***Massart,** J., (1) La loi de Weber etc.; Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique, 1888, 3. sér., Bd. 16, Nr. 12. — (2) Arch. de biol., 1889, Bd. 9, S. 515. ***Migula,** W., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.,



wohl sistiert wird, aber bei Ueberimpfung auf neuen Nährboden unter günstigeren Temperaturverhältnissen wieder erscheint, daß also das Temperaturmaximum für die Beweglichkeit keineswegs mit der Tötungstemperatur zusammenfällt. Für das Ausmaß der Bewegung stellten LEHMANN und FRIED folgende Mittelwerte für den in einer Sekunde zurückgelegten Weg fest: Choleravibrionen 30 μ, Typhusbacillus 18 μ, *Bacillus vulgaris* 14 μ, *B. tetani* 11 μ, *B. subtilis* 10 μ, *B. megaterium* 7,5 μ. Bereits ZOPF (1) fand, daß bei *Bacillus vernicosus* die Maximaltemperaturen für Bewegung und Wachstum keineswegs zusammenfallen: Die erstere dauerte noch bei 50° C fort, während das Wachstum bei 45—46° bereits eben aufhört. Bruttemperatur fand MATZUSCHITA (1) für die Eigenbewegung der von ihm untersuchten zahlreichen Arten weniger günstig als Zimmertemperatur. Bei 37° geht die Beweglichkeit in kurzer Zeit verloren, wenn auch bei dieser Temperatur das Wachstumsoptimum liegt.

Von geringerem Einfluß ist das Licht. Nur für verschiedene Purpurbakterien hat ENGELMANN (4, 6) festgestellt, daß deren Bewegung erst durch Belichtung geweckt wird. Wachstum findet auch im Dunkeln statt, in dem indes Ortsbewegung ausbleibt. Bei Verdunkelung wird die Bewegung sofort sistiert, die übrigens auch bei fortdauernder Belichtung nach ENGELMANN allmählich aufhört. Plötzliche Verminderung der Belichtung, nicht aber plötzliche Steigerung derselben, ruft bei *Bacterium photometricum* und einigen anderen Purpurbakterien eine heftige Schreckbewegung hervor. WINOGRADSKY (2) konnte die Beobachtungen ENGELMANN's im allgemeinen bestätigen, wenn er auch im einzelnen manche Abweichungen fand, so insbesondere die Fortdauer der Bewegung im Dunkeln bei manchen Purpurbakterien.

Von besonderer Einwirkung ist die chemische Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Beweglichkeit. Sauerstoffmangel hat die Einstellung der Bewegung bei obligat aerobiotischen Bakterien, wie selbstverständlich, zur Folge. Ebenso wirkt Sauerstoffzutritt nach BEIJERINCK (1) und RITTER (1) auf die obligaten Anaerobien. Letzterem Forscher zufolge erlischt auch bei manchen fakultativ anaerobiotischen Bakterien bei Sauerstoffmangel die Beweglichkeit nach kürzerer oder längerer Zeit, während das Wachstum fortdauert. Die oft beobachtete Tatsache, daß der Grad der Beweglichkeit wesentlich von dem Nährsubstrat abhängt, ist auch zweifellos auf chemische Einflüsse zurückzuführen. Nach A. FISCHER (1) gedeihen manche Bakterien auch bei Konzentrationen, bei denen die Bewegung vollständig aufhört, trotzdem bewegungsfähige Geißeln vorhanden sind. MATZUSCHITA (1) fand Bouillon günstiger für die Erhaltung der Beweglichkeit als Agar oder gar Kartoffeln. Nicht hierher gehören wieder natürlich Fälle, in denen die Bewegung aus mechanischen Gründen unmöglich ist, wie ein solcher nach ELLIS (1) dann gegeben ist, wenn in den Bakterienkulturen reichlich Schleim gebildet wird. Auch ein Gehalt des Nährmediums an Giften kann voraussichtlich Starre hervorrufen, ohne das Wachstum zu verhindern.

Von größerem Interesse ist die Wirkung einseitig wirkender Reize auf die Bewegungsrichtung, die taktische Reizbarkeit der Gärungsorganismen. Entsprechend der Natur des den Reiz veranlassenden Einflusses unterscheidet man geotaktische, phototaktische, thermotaktische usw. Bewegungen und bezeichnet die Eigenschaft der Organismen, auf einseitige Reize durch entsprechende Ortsveränderungen (Taxis) zu reagieren, als Geo-, Photo-, Thermotaxis usw. Von den tropistischen Reaktionen

sind die taktischen zunächst nur insofern verschieden, als bei ihnen die durch den einseitig wirkenden Reiz ausgelösten Richtungsänderungen durch freie Ortsbewegung, nicht durch Wachstum erreicht werden. Im übrigen kann das, was im § 103 des 17. Kapitels über die Orientierungsbewegungen im allgemeinen gesagt ist, ohne weiteres auf die verschiedenen Taxien übertragen werden. Wie die Krümmungsbewegungen beruhen sie auf einer Unterschiedsempfindung der betreffenden Organismen. Diese Sensibilität ist bis zu einem gewissen Grade jedenfalls von der Reaktion unabhängig, d. h. ein Reiz kann wohl perzipiert werden, braucht aber darum die Reaktion noch nicht auszulösen. Perzeptions- und Reaktionsfähigkeit sind, wie selbstverständlich, in ihrer Intensität von den äußeren Bedingungen abhängig und daher wechselnd. So beobachtete Rothert (1) bei einem von ihm in gekochten Erbsen gefundenen *Amylobacter* bei Weiterkultur eine allmähliche Abnahme der zuerst vorzüglich ausgebildeten negativen Aerotaxis, Chemotaxis gegenüber Aether und positiven Chemotaxis gegenüber Fleischextrakt. Die Chemotaxis gegen Aether hörte schließlich ganz auf. Es scheint allgemein die taktische Empfindlichkeit oder Reaktionsfähigkeit der Bakterien in künstlicher Kultur abzunehmen.

Wie für die tropistischen Reizkrümmungen, so gilt auch für die Taxien, soweit untersucht, das Weber'sche Gesetz, nach dem zwischen dem schon wirksamen Reiz und dem Reizzuwachs immer dasselbe Verhältnis herrschen muß, um eine Perzeption oder Reaktion, durch welche ja die geschehene Perzeption bei den Taxien erst nachweisbar wird, hervorzurufen. Es wird darauf bei den einzelnen Taxien noch zurückzukommen sein. Daß die Perzeption des Reizes auch bei den Taxien unabhängig von der Reaktion selbst ist, folgt daraus, daß es Rothert (2) gelungen ist, durch Anästhetika (Aether, Chloroform) die Empfindlichkeit von Mikroorganismen für taktische Reize aufzuheben, während die Beweglichkeit und mit ihr die Möglichkeit der Ausführung der Reaktion fortdauerte.

Die taktische Reaktion selbst, die Ansammlung an dem Orte des Reizes oder das Fliehen desselben, kann auf zweierlei Weise zustande kommen, einmal selbstverständlich in der Form, daß der Reiz einen richtenden Einfluß auf den beweglichen Organismus ausübt, so daß dieser direkt auf die Reizstelle zueilt oder von ihr sich entfernt. Diese Form der Reizbarkeit nennt Pfeffer (4) Topotaxis, während er als Phobotaxis jene Form der Reizbarkeit bezeichnet, bei der die lokale Ansammlung der Organismen in der Weise zustande kommt, daß dieselben bei ihrer unbeeinflußten Bewegung wohl ungehindert an den Ort des Reizoptimums gelangen, indes einmal dahin gelangt, nicht mehr imstande sind, den Ort wieder zu verlassen. Sobald sie vom Orte des Reizoptimums wegwandernd an solche Zonen des Mediums gelangen, in welchen andere, weniger günstige Bedingungen herrschen, tritt eine Schreckbewegung ein; der Organismus kommt zunächst zur Ruhe und schlägt nach kurzer Zeit eine rückläufige Bewegung ein. Der Ort des Reizoptimums wirkt wie eine Falle, in welche die Organismen wohl hinein-, aus welcher sie aber nicht wieder herausgelangen können. Wie eine schöne Arbeit Rothert's (1) gezeigt hat, gehören die genauer bekannten taktischen Bewegungen der Bakterien, vielleicht mit Ausnahme der Geotaxis, in das Gebiet der Phobotaxis, von Rothert selbst als apobatische Taxis bezeichnet, während er die Topotaxis strophische Taxis nannte. Von den hier in Betracht kommenden Organismen zeigen also

nur die Schwärmer der Saprolegnieen sicher topotaktische Eigenschaften, welche aber gerade für die Abwässerorganismen dieser Gruppe noch nicht untersucht sind. Die Art des Reizes ist bei beiden Formen der Sensibilität grundverschieden: Bei Topotaxis wirkt das Medium am Ort der Ansammlung reizauslösend, anlockend, bei Phobotaxis im Gegenteil das 5 Medium außerhalb des Ortes der Ansammlung und zwar abstoßend. Die Schreckbewegung und damit die Phobotaxis der Bakterien ist zuerst von ENGELMANN (4) bei *Bacterium photometricum* als Ursache der Ansammlung dieses Organismus an belichteten Stellen des Mediums erkannt worden. Da auch plötzliche Lichtabnahme die Schreckbewegung bei 10 *B. photometricum* auslöst, kann, wenigstens in diesem Falle, die Reizauslösung nicht darauf beruhen, daß längs des Bakterienkörpers eine verschiedene Beschaffenheit des umgebenden Mediums wirksam und empfunden wird. Hier wirkt sicher eine allseitige und allgemeine (diffuse) Veränderung (Schwankung) als Reiz. Ob bei der Schreckbewegung die 15 Geißeln vorübergehend starr werden, ist ungewiß, indes wahrscheinlich, nachdem nach A. FISCHER (1) vorübergehende Starrezustände bei plötzlichem Wechsel der Konzentration eintreten können.

§ 107. Die verschiedenen Taxien der Gärungsorganismen.

Wie bei den Fadenpilzen, so kommt auch bei den beweglichen 20 Gärungsorganismen dem richtenden Einflusse, den gelöste Stoffe entweder vermöge ihrer chemischen Qualität (Chemotaxis) oder vermöge ihrer Konzentration (Osmotaxis) ausüben, wesentliche Bedeutung zu, der wir eine größere Anzahl von Untersuchungen verdanken.

Wir betrachten zunächst kurz die chemotaktischen Bewegungen, 25 auf welche PFEFFER (1) im Jahre 1883 zuerst die Aufmerksamkeit lenkte, und über die er, auch soweit Bakterien dabei in Frage kommen, in den Jahren 1884 und 1888 die weiteren grund- 30 legenden Untersuchungen (2, 3) veröffentlichte. PFEFFER bediente sich bei seinen Versuchen einer Kapillare, die er mit der Lösung des zu prüfenden Stoffes füllte und dann in den 35 Bakterientropfen einführte (s. *Fig. 67*). Bei positiver Chemotaxis sammeln sich die Bakterien zunächst an der Mündung der Kapillare und dringen allmählich ein, während bei negativ chemotak- 40 tischem Verhalten die Mündung der Kapillare nicht zu Ansammlungen Anlaß gibt, vielmehr gemieden wird. Als besonders gute Reizstoffe erwiesen sich Pepton und Kaliumsalze. Andere 45 Körper, wie Natrium- und Calciumsalze, Harnstoff, Asparagin, zeigten geringeren Reizwert gegenüber den benutzten Bakterienarten. Glycerin scheint überhaupt eine chemotaktische 50

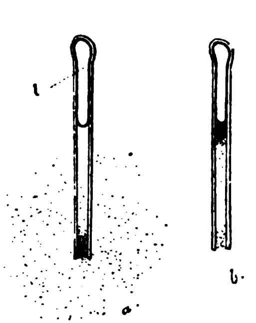


Fig. 67. Chemotaxis.
a Teil eines Wassertropfens mit *Bacillus fluorescens liquefaciens* und einer oben zugeschmolzenen Kapillare, die teilweise mit fünfprozentiger schwach alkalischer Peptonlösung gefüllt ist, bei *l* Luftblase. Vielleicht 4 Minuten nach dem Einlegen der Kapillare, starke positiv chemotaktische Häufung der Bakterien im Kapillarenmund. *b* 1/4 bis 1/2 Stunde später; die dichteste Menge der Bakterien hat sich, ihrem Sauerstoffbedürfnis folgend, an der Luftblase im oberen Teil der Kapillaren angesammelt. — Vergr. 50. Aus FISCHER, Vorlesungen, 2. Aufl.

Wirkung nicht auszuüben. Sehr empfindlich erwiesen sich *Bacterium termo* und *Spirillum undula*, bei denen die Reizschwelle bereits durch eine 0,001 Proz. Pepton, Chlorkalium oder Fleischextrakt enthaltende Lösung erreicht wurde. Dextrin lockt wohl *B. termo*, nicht aber *Sp. undula* stark an. Sehr empfindlich sind die Bakterien gegenüber Unterschieden des Sauerstoffgehalts. Daß aerobiotische Bakterien die sauerstoffreichen Stellen des Tropfens aufsuchen, hat bereits Engelmann (1, 5) beobachtet und in ingeniöser Weise benutzt, um aus der Art der Ansammlung von Fäulnisbakterien um einen im Mikrospektrum liegenden Algenfaden (s. *Fig. 68*) auf die Intensität der Assimilation in den verschiedenen Teilen des Spektrums zu schließen: Die Bakterien sammeln sich in größter Zahl an jenen Stellen, an denen die Maxima der Assimilation und also der Sauerstoffausscheidung liegen, zwischen den Spektrallinien *B* und *C* im Rot und in zweiter Reihe auch bei der Linie *F*. Die Sauerstoffzufuhr wirkt vielfach regulierend auf die Verteilung der Bakterien in Nährflüssigkeit ein, indem sie chemotaktisch (oder aerotaktisch, wenn man will) das ihrer Eigenart entsprechende Optimum aufsuchen. Beijerinck (1) hat diese unter dem Einfluß des Sauerstoffs bei verschiedenen beweglichen Bakterien zustande kommenden Anordnungen näher untersucht und als **Atmungsfiguren** (s. *Fig. 69*) bezeichnet. Im allgemeinen verhalten sich nach Engelmann (2), Winogradsky (1) und Massart (2) Spirillen und Beggiatoen positiv aerotaktisch bei infraoptimaler, negativ aerotaktisch bei supraoptimaler Sauerstoffspannung. Dasselbe fand Rothert (1) bei verschiedenen Sumpfwasserbakterien, während sich als absolut negativ aerotaktisch nur ein obligat anaerobes *Clostridium* aus faulenden gekochten Erbsen erwies. Vielleicht ist absolute Apaerotaxis bei obligat anaerobiotischen Bakterien verbreiteter. Von anderen Fällen chemotaktischer Wirkung sei erwähnt die starke Anlockung der sonst ziemlich unempfindlichen Typhusbazillen und Choleravibrionen durch Kartoffelsaft nach Ali-Cohen (1), der diese Chemotaxis zum Nachweis dieser Formen in Wasser benutzen wollte, und die anlockende Wirkung, welche Schwefelwasserstoff nach Miyoshi (1) auf *Chromatium Weissii*, vermutlich auch auf andere Schwefelbakterien, ausübt. „Atmungsfiguren" (im Sinne Beijerinck's) von Schwefelbakterien, voraussichtlich hervorgerufen durch das Zusammenwirken chemotaktischer Reizungen durch Sauerstoff und durch Schwefelwasserstoff, beschrieb Jegunow (1); nähere Angaben darüber sind im 8. Kapitel des III. Bandes zu finden. Daß die chemotaktische Wirkung eines Stoffes unabhängig von seinem Nährwert ist, folgt schon aus der positiven Chemotaxis, welche nach Rothert (1) das von ihm auf Erbsen

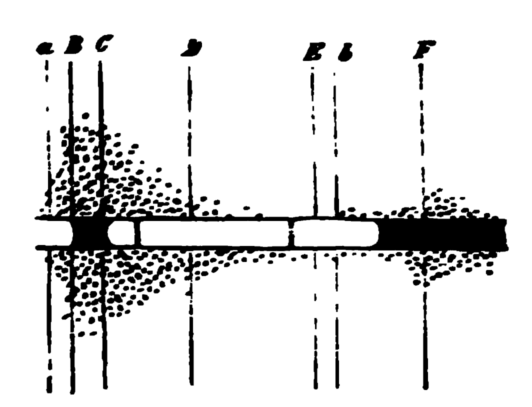


Fig. 68. Sauerstoffliebende Bakterien, einen Algenfaden umschwärmend, der in einem Mikrospektrum liegt. Die Chlorophyllkörner des Inhalts der Algenzellen sind nicht eingezeichnet, wohl aber die Spektrallinien, um die Lage des Spektrums zu bezeichnen. — Vergr. 200. Nach Engelmann.

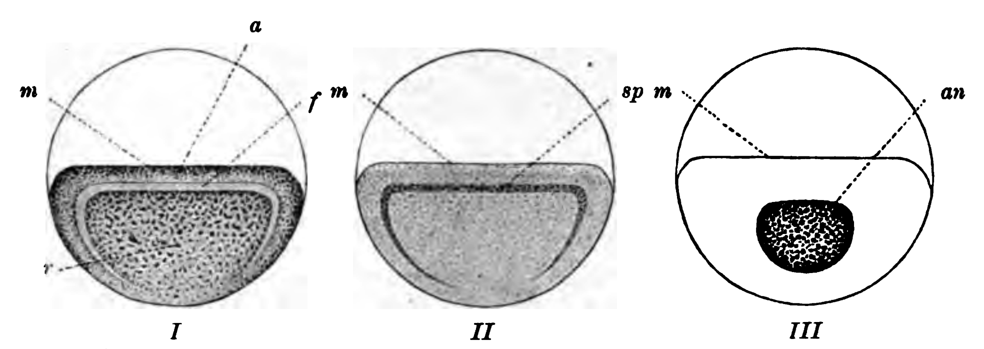


Fig. 69. Atmungsfiguren schwärmfähiger Bakterien.
Die drei Figuren sind Horizontalprojektionen von Bakterienpräparaten in je einem großen Wassertropfen. Die Objektträger sind nicht wiedergegeben, sondern nur die drei großen runden Deckgläser. Zwischen Objektträger und Deckglas ist an einer (in der Zeichnung obersten) Stelle ein Platindrähtchen eingelegt zu denken, so daß also jedes Deckgläschen mit dem Objektträger einen sehr spitzen Winkel einschließt. Der dazwischen liegende Wassertropfen muß so die Gestalt eines Keiles annehmen, dessen Rücken in *m* (Meniskus) liegt. — Nat. Größe. Nach Beijerinck.

I Atmungsfigur des aerobiotischen Typus. Die sich bewegenden Einzelwesen sammeln sich in der sauerstoffhaltigen Randzone *a*, während die ruhenden *r* im Innern liegen bleiben. Zwischen beiden ein bakterienfreier Raum *f*.

II Atmungsfigur des Spirillen-Typus. Diese Wesen verlangen und vertragen nur Spuren von Sauerstoff. Sie sammeln sich deshalb nicht am Umfange des Tropfens sondern in einiger Entfernung davon (*sp*), wo die Tension des dahin vorgedrungenen Gases geringer ist.

III Atmungsfigur des Anaeroben-Typus, also der Luftscheuen. Diese streben dem Mittelpunkte (*an*) des Tropfens, als dem Orte von geringstem Sauerstoffgehalte, zu.

gefundene *Clostridium* gegenüber Aether in wässeriger Lösung zeigt und zwar in Konzentrationen, welche die Bewegung keineswegs hemmen oder gar tödlich wirken.

Daß das Weber'sche Gesetz für die Chemotaxis gilt, daß also die Konzentration des Reizmittels in der Kapillare um ein gewisses kon- 5 stantes Vielfaches größer sein muß als seine Konzentration in der Außenflüssigkeit, damit die Reizschwelle erreicht wird, hat bereits Pfeffer im Jahre 1888 gezeigt. Bei *Bacterium termo* z. B. mußte die Kapillare etwa den vierfachen Gehalt an Fleischextrakt haben wie die Außenflüssigkeit, damit Ansammlung in der Kapillare zustande kam. Diese Tatsache hat 10 Rothert benutzt, um zu zeigen, daß der chemotaktischen Reizbarkeit gegenüber verschiedenen Stoffen nicht immer die gleiche Reizperzeption zugrunde liegt. Er prüfte das Verhalten seines *Clostridium* in einer 1,6 Proz. Aether enthaltenden Flüssigkeit mittelst der Kapillarenmethode gegenüber derselben, aber außer 1,6 Proz. Aether noch 1 Proz. Fleisch- 15 extrakt enthaltenden Flüssigkeit und gleichzeitig derselben, aber nur 1 Proz. Fleischextrakt enthaltenden Flüssigkeit: In beiden fand gleich starke Ansammlung statt, was nach dem Weber'schen Gesetz nicht der Fall sein könnte, wenn der Reizwirkung des Aethers und der des Fleischextrakts dieselbe Reizperzeption zugrunde läge, da dann die Empfindlichkeit gegen 20 Fleischextrakt durch den Aether abgestumpft sein müßte.

Daß die chemotaktischen Bewegungen phobotaktischer (apobatischer) Natur sind, ist bereits im § 106 dieses Kapitels erwähnt worden. Außer Rothert haben auch Jennings und Crosby (1) den chemophobotaktischen Charakter solcher Bakterienansammlungen nachgewiesen. 25

Von der Chemotaxis praktisch schwer zu unterscheiden ist die Osmotaxis, so grundverschieden beide Eigenschaften sind: Die Osmotaxis (Tonotaxis) beruht auf der Sensibilität für Differenzen des osmotischen Druckes der Lösungen, nicht auf der Sensibilität für bestimmte chemische 5 Substanzen. Erst ROTHERT (2) gelang es, den direkten Nachweis für die absolute Verschiedenheit von Chemo- und Osmotaxis zu führen: Es gelang ihm, bei einer Form vom Typus des *Bacterium termo* die Proschemotaxis von der Aposmotaxis zu trennen, indem letztere schon bei geringerer Konzentration der Narkotika (Aether, Chloroform) erlosch als 10 erstere. PFEFFER (2) hat zuerst die repulsive Wirkung konzentrierter Lösungen als auf Osmotaxis beruhend erkannt und scharf von der Apochemotaxis durch bestimmte chemische Körper unterschieden, und PFEFFER hat gleichzeitig auch bereits für Kalisalpeter und Rohrzucker den Nachweis erbracht, daß isosmotische Lösungen beider Stoffe (1 Proz. Kalisalpeter, 6 Proz. 15 Rohrzucker) ziemlich gleich stark repulsiv wirken, ein Gesetz, das nach MASSART (1) allgemein für die osmotaktische Wirkung von Lösungen gegenüber ein und demselben Organismus gilt. Während bis dahin nur negative Osmotaxis bekannt war, hat dann MASSART (2) im Jahre 1891 für zwei marine Spirillen auch positive Osmotaxis wenigstens mit größter 20 Wahrscheinlichkeit nachgewiesen. Dieselben verhalten sich gegenüber Salzlösungen von der Konzentration des Meereswassers positiv, während sie von stärkeren und schwächeren Lösungen abgestoßen werden. Allerdings hat MASSART keineswegs sichergestellt, daß es sich hier nicht um chemotaktische sondern um osmotaktische Erscheinungen handelt; doch 25 ist das sehr wahrscheinlich. In hohem Grade unempfindlich erwies sich in MASSART's Versuchen aus dem Jahre 1889 ein „*Bacterium termo*", das sogar in hochkonzentrierte Lösungen (20 Proz. Kalisalpeter, 30 Proz. Rohrzucker) eindrang, ohne geschädigt zu werden. Zweifellos war das Bakterium für diese Stoffe außerordentlich leicht permeabel, so daß die 30 Differenz des osmotischen Druckes gar nicht zur Perzeption gelangte, für den Organismus nicht existierte. Körper, welche in Lösung Plasmolyse nicht zu erzeugen vermögen, können auch nicht osmotaktisch wirken. Der innere Reizanlaß bei osmotaktischer Reizung kann ja wohl kaum in etwas anderem bestehen wie in der durch den abweichen- 35 den osmotischen Druck der Außenflüssigkeit bedingten Aenderung des Wassergehaltes im Plasma. Wo eine solche nicht stattfindet, findet auch keine osmotische Reizung statt. Je nach den osmotischen Eigenschaften der verschiedenen Organismen wird daher auch die osmotaktische Wirkung desselben Stoffes auf verschiedene Organismen verschieden sein.

40 Hydrotaktische Reizbarkeit ist für Bakterien bisher noch nicht festgestellt. ROTH (1) gibt eine Art Rheotaxis für gewisse Bakterien an: Dieselben, speziell die des Zahnschleims, sollen entschiedene Neigung haben, gegen den Strom zu schwimmen, eine Neigung, die freilich von ROTH auf rein mechanische Weise erklärt wird, so daß es sich nicht um 45 wirkliche Rheotaxis handeln würde.

Ein typischer Fall von Phototaxis ist bereits im vorhergehenden Paragraphen erwähnt, das Verhalten des *Bacterium photometricum* gegenüber beleuchteten Stellen der Kulturflüssigkeit. Bei einseitiger Belichtung kommt nach ENGELMANN (4) eine Ansammlung dieses Bak- 50 teriums nicht zustande, so daß ihm gegenüber allmähliche Zunahme des Lichtes nicht als genügender Reiz zu wirken scheint. Phototaktische Ansammlung beobachtete ferner WINOGRADSKY (1, 2) bei einem dem *B. photometricum* nahe stehenden *Chromatium*, bei *Beggiatoa* dagegen nega-

tive Phototaxis. Die ultraroten Strahlen sind bei der Phototaxis der Purpurbakterien nach ENGELMANN (3) am wirksamsten. BEAUREGARD und GUICHARD (1) fanden Röntgenstrahlen ohne Einfluß auf die Beweglichkeit eines nicht näher beschriebenen Bazillus.

Positive Thermotaxis will SCHENK (1) bei *Bacillus prodigiosus*, *Staphylococcus pyogenes aureus* und anderen derart gefunden haben, daß im hängenden Tropfen die Bakterien nach der durch einen eintauchenden Kupferdraht erwärmten Stelle sich hinbewegen. Nur kurz hingewiesen sei darauf, daß die von BOYCE und EVANS beobachtete, nach ihnen von der Schwerkraft veranlaßte Wachstumsrichtung des *Bacillus Zopfii* von BEIJERINCK (2) als positive Thermotaxis gedeutet wurde, wahrscheinlich aber mit Unrecht (s. S. 473).

Einen Einfluß der Schwerkraft auf die Bewegung der Bakterien fand bisher nur MASSART (3) für einige marine Spirillen, von denen die eine als negativ, die andere als positiv geotaktisch sich erwies.

Erwähnt sei weiter nebenbei, daß nach MASSART (4) das *Spirillum undula* in einem Wassertropfen stets an die Oberfläche kommt, und daß er dieses Verhalten auf einen Berührungsreiz gegenüber der Oberflächenspannung besitzenden Flüssigkeitsoberfläche zurückführt.

Auch ein Richtungsreiz durch elektrische Ströme (Galvanotaxis) ist für Bakterien mehrfach angegeben. Ausgeschlossen muß dabei allerdings die rein mechanische elektrische Ueberführung von Bakterien durch den Strom werden, wie sie BILL (1) allein beobachtete, die mit Reizerscheinungen nichts zu tun hat und ebenso an toten anorganischen Partikeln stattfindet. Schon VERWORN (1) gibt Galvanotaxis für Bakterien an. Nach LORTET (1) sollen sich bewegliche Bakterien, solange sie jung und reaktionsfähig sind, parallel zur Richtung von Induktionsströmen ordnen, die man durch die bakterienhaltige Flüssigkeit hindurchleitet. Jedenfalls erfordert die Galvanotaxis der Bakterien indessen noch eine sorgfältige und kritische Bearbeitung, ehe ihre Existenz als sicher gestellt erachtet werden kann.

Literatur

zum Kapitel Beeinflussung der Ortsveränderungen durch äußere Einwirkungen.

*Ali-Cohen, Chr. H., (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 161. *Beauregard, H., und Guichard, (1) Comptes rend. de la Soc. de Biol., 1897, S. 803. *Beijerinck, M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. 14, S. 827. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 799. *Bill, F., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1899, Bd. 26, S. 257. *Ellis, D., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 546. *Engelmann, (1) Bot. Ztg., 1881, Bd. 39, S. 441. — (2) Pflügers Archiv, 1881, Bd. 26. — (3) Ebenda, 1882, Bd. 29, S. 398. — (4) Ebenda, 1883, Bd. 30, S. 95. — (5) Bot. Ztg., 1882, Bd. 40, S. 321 u. 419. — (6) Ebenda, 1888, Bd. 46, S. 661. *Fischer, A., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1895, Bd. 27, S. 163. *Jegunow, M., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd 2, S. 11 u. 441. *Jennings, H. S., und Crosby, (1) Am. Journ. of Physiol., 1901, Bd. 6, S. 29. *Lehmann und Fried, (1) Arch. f. Hyg., 1903, Bd. 47, S. 311. *Lortet, L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 122, S. 892. *Massart, J., (1) Sensibilité et adaptation des organismes à la concentration des solutions salines. Arch. de Biol., 1889, Bd. 9. — (2) Bull. de l'Ac. Roy. de Belg., 1891, 3. sér., Bd. 22, S. 148. — (3) Ebenda, S. 158. — (4) La sensibilité tactile etc. Journ. de Méd. de Bruxelles, 5 janvier 1891. *Matzuschita, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 209. *Miyoshi, M., (1) Journ. Coll. of Science, Tokyo, 1897, Bd. 10, S. 169. *Pfeffer, W., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1883, Bd. 1, S. 524. — (2) Arb. d. bot. Inst. Tübingen, 1884, Bd. 1, S. 363. — (3) Ebenda, 1888, Bd. 2, S. 582. — (4) Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 2, Leipzig 1904. *Ritter, G., (1) Flora, 1899, Bd. 86. S. 329. *Roth, (1) Deutsch. med. Wochenschr., 1893, Nr. 15; Kochs Jahresb., 1893, Bd. 4, S. 124. *Rothert, W., (1) Flora, 1901, Bd. 88, S. 371. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1903, Bd. 39, S. 1. *Schenk, S. L., (1) Centralbl.

f. Bakt., 1893, Bd. 14, S. 87. ***Verworn, M.**, (1) Pflügers Archiv, 1889, Bd. 46, S. 290. ***Winogradsky, S.**, (1) Bot. Ztg., 1887, Bd. 45, S. 489. — (2) Beiträge z. Morphol. u. Physiol. d. Bakterien, 1888, Bd. 1. ***Zopf, W.**, (1) Beiträge z. Physiol. u. Morphol. niederer Organismen, Leipzig 1892, Bd. 1.

(Manuskript-Einlauf: 16. Dec. 1904.)

19. Kapitel.

Giftwirkungen.

Von Prof. Dr. W. BENECKE.

§ 108. Wesen und Beurteilung der Giftwirkung. Spezifische Unterschiede in der Widerstandskraft gegen Gifte. Die Anpassungsfähigkeit an Gifte.

Gifte sind Körper, die vermöge ihrer chemischen Eigenart tötend, entwicklungshemmend und schädigend, oder auch, falls sie in sehr geringer Menge geboten werden, entwicklungsfördernd und anregend auf die Organismen einwirken. Behufs Untersuchung der erstgenannten Wirkungsart werden die Versuchsobjekte nach beendeter Einwirkung des Giftes auf geeignete, giftfreie Nährböden übertragen; zwecks Untersuchung der Hemmung oder Förderung werden die Gifte gemeinsam mit Nährstoffen geboten.

Die Leistungsfähigkeit eines Giftes ist von der innerhalb gewisser Grenzen veränderlichen Widerstandskraft des Organismus, auf den es wirkt, vom Lösungsmittel und von der Konzentration, in der es dargeboten wird, von der Temperatur, bei welcher, und der Zeit, während welcher es einwirkt, abhängig.

Während von der spezifisch verschiedenen Widerstandskraft der Schluß dieses Paragraphen handelt und der Besprechung des Lösungszustandes der nächste Paragraph gewidmet ist, sei hier über den Einfluß von Temperatur und Konzentration folgendes vorweg bemerkt. Der Einfluß der **Temperatur** ist (vgl. BEHRING [1]) verschieden, je nachdem man den „Tötungswert“ oder den „Hemmungswert“ einer Giftlösung untersucht. Die Tötung erfolgt um so leichter, je höher die Temperatur ist, die Entwicklungshemmung hingegen pflegt beim Temperaturoptimum der Versuchspflanze am geringsten, bei höherer oder niedrigerer Temperatur stärker zu sein. Sogar kann ein und dieselbe Giftlösung je nach der Temperatur, bei der sie wirkt, entweder töten oder lediglich hemmen. — Die fördernde Wirkung, welche Giftspuren auslösen, dürfte, wie die Hemmung, beim Temperaturoptimum meistens am ansehnlichsten sein. Eingehende Untersuchungen darüber fehlen jedoch.

Noch auffallender als der Einfluß der Temperatur ist der Einfluß der **Konzentration** auf Leistungsfähigkeit und Wirkungsart einer Giftlösung. Bei verschwindend geringer Konzentration ungiftig, entfaltet sie oberhalb eines meistens sehr niedrig liegenden Schwellenwertes eine anregende, oberhalb eines höher liegenden eine hemmende, oberhalb eines abermals höher liegenden eine abtötende Wirkung. Zwischen fördernder und hemmender Konzentration muß somit, wenigstens theoretisch, wiederum

eine unwirksame Konzentration liegen. Es sei gleich hier bemerkt, daß Ausnahmen von der Regel, daß hemmende Wirkung durch Konzentrationserhöhung in abtötende übergeht, nicht fehlen. Paul und Krönig (1, 2) finden, daß eine 3,5-proz. Kupferchloridlösung die Sporen des Milzbrandbazillus in kürzerer Zeit abzutöten vermag als eine viermal so starke; nach denselben Forschern ist eine etwa 91-proz. Phenollösung eher schwächer in ihrer Wirkung als eine 4—5-proz. In höheren Konzentrationen zeigt sich neben der giftigen auch noch die wasserentziehende (osmotische) Wirkung gelöster Stoffe. Schon aus diesem Grunde dürfen nur isosmotische Lösungen von Giften untereinander verglichen werden. Wenn man ähnliche Stoffe, etwa Salze oder organische Giftstoffe, in ihrer Wirkung gegeneinander abwägt, genügt man dieser Forderung durch Verwendung solcher Lösungen, welche im selben Volumen desselben Lösungsmittels die gleiche Zahl von Molekülen enthalten, d. h. indem man die Körper im Verhältnis ihrer Molekulargewichte löst. Die Konzentration wird dann durch die Zahl der Liter angegeben, in welchen das in Grammen ausgedrückte Molekulargewicht (1 Mol.) enthalten ist. Eine Lösung von 1 Mol. Kupfersulfat (kürzer ausgedrückt: Lösung von Kupfersulfat) in einem Liter enthält also 15,9 Proz. $CuSO_4$ usw. Handelt es sich darum, verschieden starke Lösungen eines und desselben Giftes zu vergleichen, so empfiehlt es sich aus demselben Grunde, die schwächere durch Zusatz eines möglichst ungiftigen Körpers (Kalium-, Natriumsalzes usw.) auf denselben osmotischen Druck wie die stärkere zu bringen. Eine Lösung von Kupfersulfat in 5 Litern wird erst dadurch mit einer solchen in 2 Litern vergleichbar, daß man ihr noch 2,2 Proz. Kalisalpeter hinzufügt. Vgl. darüber z. B. Pulst (1). Vollkommen ungiftige, d. h. für besagten Zweck ideale Körper gibt es allerdings nicht, vielmehr nur solche, deren Giftwirkung stark zurücktritt und erst in höheren Konzentrationen neben der osmotischen sich geltend macht. Wenn, um dies an einem Beispiele zu erläutern, bei Verwendung starker, äquimolekularer Lösungen von Natrium- und Kaliumsalzen, die gewöhnlich als nicht giftig bezeichnet werden, die ersteren eine deutlicher hemmende Wirkung auf bestimmte Spaltpilze ausüben als die letzteren (vgl. S. 337), so zeigt dies, daß in diesem Falle die ersteren eine stärkere Giftwirkung (spezifische Wirkung) als die letzteren entfalten.

Eine scharfe Grenze zwischen giftigen und ungiftigen Körpern kann also nicht gezogen werden, und es kann auch nicht wundernehmen, daß unentbehrliche Nährstoffe, wenn sie in zu großer Menge geboten werden, giftig wirken, umgekehrt entbehrliche Stoffe verhältnismäßig harmlos sein können. Auch allverbreitete Stoffe, etwa die Kohlensäure, wirken in zu großer Dichte giftig, und es braucht kaum auf die in fast allen Darstellungen von der Giftwirkung betonte Erscheinung hingewiesen zu werden, daß Stoffe, die dem einen Pilz unentbehrliche Nährstoffe sind, den anderen töten oder schädigen können. Der Sauerstoff ist für die Anaerobier, falls er in großer Menge Zutritt hat, ein tödliches Gift. Pepton oder andere organische Stoffe wirken auf die Nitrifikationsbakterien entwicklungshemmend. Trotz dieser Unmöglichkeit, giftige und harmlose Körper scharf zu scheiden, fällt es aber bekanntlich in praxi nicht schwer, Stoffe den einen oder den anderen zuzuweisen. Schwermetallsalze, Toxine und viele andere Körper, die in geringer Menge schon gewaltige Wirkungen haben, werden allgemein als Gifte bezeichnet, die meisten Nährsalze umgekehrt nicht, wenngleich auch solche unter gewissen Umständen und auf gewisse Organismen bereits

in geringer Menge schädlich wirken können. — Nach diesen einleitenden Bemerkungen wenden wir uns zuerst einer etwas eingehenderen Betrachtung der drei gekennzeichneten Giftwirkungsarten, Tötung, Hemmung, Förderung, zu. Eine systematische Aufzählung der Gifte kann hier 5 nicht gegeben werden; der Leser, der eine solche wünscht, sei auf O. LOEW's (1) Buch verwiesen, in welchem alle Arbeiten, die bis zum Jahre 1893 über Giftwirkungen erschienen sind, einer sichtenden Betrachtung unterzogen werden.

Um den **Tötungswert**, oder **antiseptischen Wert** in der Ausdrucks- 10 weise der Mediziner, zu messen, läßt man die Gifte in wässriger, alkoholischer oder sonstiger, dem jeweiligen Versuchszweck angepaßter, aber möglichst einfacher Lösung auf die Versuchsobjekte, z. B. eine für alle Versuchsreihen gleiche Anzahl von Bakterien- oder Eumyceten-Sporen, einwirken, sät diese dann nach sorgfältiger Entfernung des Giftes auf 15 einen geeigneten Nährboden aus und beobachtet, ob sie getötet sind, oder ob alle oder doch ein Bruchteil die Einwirkung des Giftes überstanden haben. In einer technisch sehr vollkommenen Art und Weise lösten diese Aufgabe PAUL und KRÖNIG (1 u. 2) bei ihren Untersuchungen über den Tötungswert von Giftlösungen für Milzbrandsporen. Diese 20 wurden nicht, wie es R. KOCH (1) empfohlen hatte, an Seidenfäden, sondern an böhmische Granate angetrocknet, in diesem Zustande in die Giftlösung gebracht, nach der gewünschten Zeit das Gift sorgfältig entfernt, die Sporen durch Schütteln der Granate in mit destilliertem Wasser gefüllten Röhrchen abgesprengt und den Nährböden überant- 25 wortet. So gelingt es, mit genau gleichen Mengen von Sporen vergleichende Versuchsreihen anzusetzen. Unerläßlich zur Erlangung richtiger Ergebnisse ist hierbei zunächst das genaue Entfernen der Gifte von der Oberfläche der Sporen nach beendeter Einwirkung. Das kann bei Metallgiften durch Schwefelammon erfolgen, sonst durch ge- 30 eignete Lösungsmittel der Gifte, die den Sporen nicht schaden. Bei vielen Giften, z. B. dem Formaldehyd, gelingt es überhaupt schwer und ist in den Fällen unmöglich, in welchen der Giftstoff während der Einwirkung im Innern der Zellen gespeichert wurde, derart, daß er von den lösenden oder fällenden Reagentien nicht erreicht werden kann. 35 Versäumt man es, die Gifte tunlichst zu entfernen, so gelangen sie in geringen Mengen mit auf den Nährboden und können die Klarheit der Ergebnisse trüben. So wies GEPPERT (1) nach, daß Milzbrandsporen, die mit 0,1-proz. Sublimatlösung behandelt waren, sich nach sorgfältiger Ausfällung des Giftes auf Nährböden noch entwickeln können, daß dies 40 aber nicht der Fall ist, wenn man nach beendeter Einwirkungszeit nicht für Entfernung des Quecksilbersalzes von den Sporenoberflächen sorgt, da dann Quecksilberspuren mit auf den Nährboden gelangen und die Entwicklung hemmen können. Sehr beachtenswert ist auch die von demselben Forscher beobachtete Erscheinung, daß mit Sublimat be- 45 handelte, aber nicht getötete Sporen dadurch so geschwächt werden können, daß sie auf schwach sublimathaltigen Böden, auf denen normale, kräftige Sporen wachsen können, die Keimung verweigern. Man darf also bei Anstellung solcher Versuche, wie sie oben geschildert wurden, aus der Tatsache, daß kräftige Milzbrandsporen auf den benutzten Böden 50 keimen, nicht den Schluß ziehen, daß von dem Gifte nichts auf diese Nährböden übertragen worden sei. Von großem Einfluß auf das Ergebnis ist auch die Art des Nährbodens und der sonstigen Züchtungsbedingungen, die nach der Entfernung des Giftes zur Verwendung ge-

langen: R. Koch (1) glaubte, daß Sublimat in der Konzentration von 0,1 Proz. genüge, um Milzbrandsporen zu töten, weil sie nach derartiger Behandlung auf Gelatine bei Zimmertemperatur nicht mehr wuchsen. Behring (1) jedoch wies nach, daß mit 0,1-proz. Sublimat behandelte Sporen des genannten Spaltpilzes wohl noch auskeimen können, wenn sie nach beendeter Einwirkung des Giftes in Bouillon oder Serum im Brütschrank (bei ca. 37°) gehalten werden.

Untersuchungen über den **Hemmungswert** von Giften, oder den **desinfizierenden Wert** im Sprachgebrauch der Mediziner, führen zu Ergebnissen, die darum häufig nicht leicht zu deuten sind, weil bei dieser Art der Untersuchung die Gifte gemeinsam mit Nährstoffen, also nicht in einfachen Lösungsmitteln, geboten werden können und ihre Wirkung sich durch das Vorhandensein anderer gelöster Stoffe mehr oder minder stark verschiebt. Die medizinische Literatur ist voll von Beispielen dafür (vgl. Behring [1]), daß sich mit der Art der Ernährung die Widerstandskraft gegen Gifte verändern kann. Beispiele aus der technischen Mykologie findet der Leser auf S. 331 des vorliegenden Bandes. Von ganz neuen Veröffentlichungen sei hier noch die Arbeit von Iwanoff (1) genannt: Bei Zufuhr von Glycerin und Ammoniumnitrat als Kohlenstoff- und Stickstoffquellen wirkte von verschiedenen Metallen das Mangan am wenigsten giftig auf Schimmelpilze; es folgten dann Kobalt, Nickel, schließlich Kupfer. Wird jedoch Asparagin als Stickstoffnahrung geboten, so ist nächst Mangan das Kupfer am wenigsten giftig, das Nickel am giftigsten. Auch sind nach Iwanoff die Gifte von verschiedener Kraft, je nachdem direkt vergärbare oder andere Kohlenhydrate als Nahrung gereicht werden. Es muß hierbei immer nach Möglichkeit unterschieden werden, ob der Lösungszustand der Gifte durch die Gegenwart anderer mitgelöster Stoffe verändert wird — dies ist z. B. dann der Fall, wenn Metallgifte in eiweißreicher Lösung wirken, — oder ob gleichzeitig die Art der Nahrung einen Reiz auf das Versuchsobjekt ausübt und dessen Widerstandskraft in unbekannter Weise verändert. Allgemein gesagt wird ein kräftig genährter Organismus, wie gegen andere schädliche Einflüsse so auch gegen Gifte, widerstandsfähiger sein als ein kümmerlich ernährter. In manchen in der Literatur beschriebenen Beispielen für die Verschiebung des Hemmungswertes mit der Ernährungsweise, z. B. vielleicht in den oben beschriebenen Versuchen von Iwanoff, dürfte auch die durch das Wachstum bedingte Reaktionsänderung der Lösung zur Folge haben, daß die einen Gifte leichter, die anderen schwieriger löslich werden, womit sich dann die Veränderung ihrer Wirkungskraft leicht erklären läßt. Ist somit bei Untersuchungen über die Hemmungswerte von Giften die Möglichkeit der Beeinflussung derselben durch die Nährstoffe jeder Zeit im Auge zu behalten, so schließt das nicht aus, daß unter Umständen Gifte in Wasser dieselbe Wirkung wie in Nährlösungen entfalten. Beispielsweise findet Clark (1), daß Dichloressigsäure, Kobaltsulfat, Kalilauge in Zuckerrübenextrakt gelöst auf verschiedene Schimmelpilze ganz ebenso wie in wässriger Lösung einwirken. Naheliegend ist der Versuch, die Beeinflussung der Hemmungswerte der Gifte durch Nährstoffe dadurch zu umgehen, daß man sie, ähnlich wie bei der Untersuchung des Tötungswertes, in Wasser anstatt in Nährlösungen auflöst und lediglich die ersten auf Kosten der Reservestoffe vor sich gehenden Keimungsstadien berücksichtigt. Dies geschah z. B. durch Stevens (1) in einer Arbeit, deren Ergebnisse in diesem Abschnitt häufig benutzt werden. Dabei ist

aber zu bedenken, daß viele Sporen in reinem Wasser überhaupt nicht keimen; der eingehenden Behandlung dieser Frage auf S. 339 ff. sei hier noch hinzugefügt, daß nach CLARK (1) Konidien von *Botrytis*, die zu den wenigen Pilzen gehört, deren Fortpflanzungszellen auf reinem Wasser 5 keimen können, dies doch immer nur zum Teil (etwa 40 Proz.) tun. Wenn also Sporen in wäßrigen Giftlösungen nicht keimen, so braucht dies keineswegs Folge einer Hemmung durch den Giftstoff zu sein, kann vielmehr auch darauf beruhen, daß die nötigen Reizstoffe fehlten. Wenn andrerseits Sporen mancher Schimmelpilze, die in Wasser nicht keimen, 10 dies nach STEVENS in Giftlösungen tun, zeigt dies, daß das Vorhandensein des betreffenden Giftes in richtiger Konzentration den Keimungsreiz gewährleistet.

Wenn es sich nach diesen Ausführungen also zeigt, daß Untersuchungen über den Hemmungswert mindestens ebenso verwickelte Auf- 15 gaben stellen als solche über den Tötungswert, so sind sie nach PAUL (1) doch in bestimmten Fällen dadurch vereinfacht, daß der Zeitfaktor bei ihnen nicht immer eine Rolle spielt. PAUL schreibt: „Entwicklungshemmung ist die Fähigkeit der Stoffe, Wachstum und Vermehrung der betr. Individuen so lange zu verhindern, als sie im Nährboden anwesend 20 sind. Entfernt man ihn oder verpflanzt man die Organismen, so entwickeln sie sich sofort normal weiter, d. h. die Zeit kommt nicht in Betracht, nur die Konzentration ist maßgebend.“ Für den Tötungswert spielt im Gegensatz dazu die Zeit immer eine maßgebende Rolle. Tatsächlich ist dieser Unterschied aber nicht immer deutlich, da auch bei 25 Untersuchungen über die Hemmung die Zeit sehr wesentlich mitspielen kann. Hemmungswerte können bei hinreichend langer Einwirkung des Giftes in Tötungswerte sich umwandeln; dies wird z. B. durch eine Fülle von Zahlenangaben belegt, die sich in den Arbeiten PAUL's und KRÖNIG's (1 u. 2) über Bakterien finden. Für Schimmelpilze führt 30 PULST (1) an, daß bei *Mucor*, weniger bei anderen, die entwicklungshemmende Konzentration von Giften allmählich zu einer tödlichen wird. Es sind also Hemmungswerte ohne Einführung des Faktors Zeit häufig gar nicht von Tötungswerten zu trennen. Und andrerseits gilt, daß Hemmungswerte infolge allmählicher Anpassungsfähigkeit von Sporen, 35 Konidien usw. allmählich ihren hemmenden Charakter verlieren können (s. weiter unten). Auch bei Berücksichtigung der Gestaltung und des Wachstums ergibt sich, daß der Hemmungswert nicht unvermittelt in einen solchen überspringt, der normales Wachstum erlaubt, da Wachstum unter Schädigung erfolgen kann und andrerseits schädliche Nach- 40 wirkungen eines Giftes sich bemerkbar machen können. CHAPIN (1) fand, daß Mucorsporen, die unter einer Kohlensäureatmosphäre geweilt hatten, nachher nicht normal sondern unter krankhaften Gestaltabweichungen auswuchsen. Wie schon auf S. 350 bemerkt, beobachtete WEHMER eine schädliche Nachwirkung eines Kohlensäureüberschusses 45 (oder Sauerstoffmangels) auf die Fortpflanzung von *Citromyces*. CLARK (1) konnte in seinen mikroskopischen Untersuchungen über die Beeinflussung der Sporenkeimung durch Gifte zweierlei Fälle von Hemmung bzw. Schädigung unterscheiden: Entweder erfolgte trotz anfänglicher zeitlicher Verschiebung Ausbildung des Mycels und Fruktifikation in annähernd 50 normaler Weise, oder aber Keimung und Wachstum erfolgte unregelmäßig und stark verzögert und Fortpflanzung trat überhaupt nicht ein. Es waren also Uebergangsstadien zwischen vollkommener Hemmung und vollkommen normalem Wachstum zu beobachten.

Wenn somit darauf hingewiesen werden muß, daß häufig Hemmung und Tötung durch Gifte ineinander übergehen, sind beide doch, falls irgend möglich, auseinanderzuhalten. Dies veranschaulicht z. B. auch der folgende Befund von CLARK (1): Achtet man auf die Entwicklungshemmung, so ist unter den vom genannten Forscher untersuchten Pilzen 5 *Oedocephalum albidum* am wenigsten widerstandsfähig; es folgen *Botrytis vulgaris*, *Penicillium glaucum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*. Die Reihenfolge ändert sich, wenn man den Tötungswert untersucht; dann ist *Botrytis* am wenigsten widerstandsfähig, es folgen *Oedocephalum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, schließlich *Penicillium glaucum*. Diese Reihen sind 10 auf Grund des durchschnittlichen Verhaltens gegen eine Zahl verschiedener Gifte aufgestellt. Wie uns derselbe Forscher zeigt, ist aber auch die Art des Giftes von großer Bedeutung: Kobaltsalze hemmen de meisten Pilze schon bei geringerer Konzentration als Nickelsalze; gleichwohl tötet Nickel die meisten Pilze schon in niedrigeren Konzentrationen 15 als das Kobalt. Ob im übrigen Hemmungswert und Tötungswert des Giftes nahe bei einander liegen oder nicht, darüber entscheidet ebenfalls zunächst das Versuchsobjekt: Bei Verwendung von Bakteriensporen findet man, daß die zwei Werte weiter auseinander liegen als bei der Untersuchung der vegetativen Zellen. Aber auch von der Art des Giftes 20 ist die Beantwortung dieser Frage abhängig. CLARK (1) gibt an, daß bei Verwendung von Nickel-, in zweiter Linie von Eisensalzen als Giften beide Punkte auffallend weit, weiter als bei anderen Giften voneinander entfernt sind.

Die Anregung und **Förderung der Entwicklung**, also die dritte 25 Form der Giftwirkung, ist im Rahmen allgemein physiologischer Betrachtungen bereits auf S. 342 bis 344 abgehandelt worden. Das Wesen dieser Förderung des Wachstums durch Giftspuren wurde von vielen Forschern derart gedeutet, daß zunächst der Fortpflanzungsvorgang gehemmt und dadurch indirekt das mit ersterem korrelativ 30 verknüpfte Mycelwachstum gefördert wird. Daß diese Erklärung nicht ausreicht, konnte CLARK (1) mit der Beobachtung nachweisen, daß *Botrytis*, welche unter den von ihm gewählten Versuchsbedingungen überhaupt nie Konidien trug, doch die Förderung des Wachstums durch Giftspuren zu erkennen gab. Weitere Angaben über diese Fragen 35 findet man bei PULST (1); dieser Forscher fand, daß in den meisten Fällen eine ganz geringe Ueberschreitung der fördernden Konzentration bereits Hemmungserscheinungen bewirkt.

Es ist nun der Frage nach dem **Mechanismus der Giftwirkung** näher zu treten. Da über die regulierenden, treibenden und hemmenden 40 Bedingungen des Stoff- und Formwechsels kaum etwas bekannt ist, lassen sich über das Wesen der fördernden und hemmenden Giftwirkung höchstens Vermutungen äußern. Nach LOEW (1) ist die Ursache der Giftwirkung in der Labilität der Eiweißmoleküle des lebenden Protoplasmas zu suchen, deren Atomgruppen sich in steter Umlagerung be- 45 finden. Die Lebhaftigkeit dieser Umlagerung wird durch schwache Reize erhöht, stärkere Reize beeinflussen dieselbe so stark, daß die Labilität des Plasmaeiweißes dadurch aufgehoben, das Leben somit vernichtet wird. — Um die tötende Giftwirkung dem Verständnis näher zu bringen, kann man annehmen, daß die Gifte entweder katalytisch wirken, oder 50 aber in chemische Wechselwirkung mit der lebenden Zelle oder ihren Organen treten und dadurch verderblich wirken. Zweifellos handelt es sich häufig um Oxydationen, und PAUL und KRÖNIG (1 u. 2) zeigten

daß man Gifte, wie die Salpetersäure, Uebermangansäure u. a., mit Rücksicht auf ihre vergiftende Kraft in dieselbe Reihenfolge einordnen kann wie vermittelst der elektrischen Oxydationsketten. Nur das Chlor nimmt eine Sonderstellung ein, indem es ein stärkeres Gift
5 ist, als man aus seiner Oxydationswirkung auf tote Masse schließen sollte. Die Wirkung der giftigen Metallsalze ist wohl meistens so zu erklären, daß dieselben mit Eiweiß oder ähnlichen Stoffen schwer lösliche Niederschläge bilden, die vielleicht salzartiger Natur sind, d. h. dann ausfallen, wenn das Löslichkeitsprodukt ihrer Ionen überschritten
10 wird (vgl. § 109). Die Frage nach dem Mechanismus der Giftwirkung ist enge mit der anderen verknüpft, an welcher Stelle und an welchen Organen der Zelle die Wirkung angreift. Bekannt ist, daß häufig Zellwände, Sporenhäute, wie gegen andere Schädigungen so auch gegen Giftwirkung, Schutz gewähren, und diese wird darum nicht selten mit
15 einer Zerstörung oder Veränderung der Membran, der sich dann die des lebenden Inhaltes anschließt, einsetzen. In anderen Fällen, in welchen das Gift die toten Zellhüllen ohne Schwierigkeiten zu durchwandern vermag, hängt es von der Eigenart des lebenden Plasmahäutchens ab, ob das Gift ins Zellinnere eindringen kann, oder schon durch äußerliche
20 Berührung des Plasmahäutchens dies und damit das Leben schädigt. Wir erinnern hier an OVERTON's (1) Theorie, daß nur solche Stoffe, die in Lipoiden (Lecithin, Cholesterin) löslich sind, das Plasma durchwandern können, und an die sich daran anschließende Kritik PFEFFER's (1), welcher auf die Möglichkeit einer regulatorischen Veränderlichkeit des
25 Plasmahäutchens hinwies, um zu sehen, daß hier Fragen vorliegen, welche einer ausreichenden physikalisch-chemischen Erklärung vorläufig noch harren. Jedenfalls ist die Frage nach der Durchlässigkeit von großer Bedeutung für die Beurteilung der Wirkung von Giften. Dies zeigen neben vielen anderen auch die folgenden Erfahrungen: PULST (1)
30 fand, daß ein gegen Kupfer besonders widerstandsfähiger Stamm von *Penicillium* diese Eigenschaft deshalb besaß, weil dies Metall nicht ins Innere der Zellen eindringen konnte. Wenigstens ließ sich weder analytisch in der Pilzdecke, noch auch plasmolytisch im Zellsaft Kupfer mit Sicherheit nachweisen. Ferner beobachtete STEVENS (1), daß von
35 den drei Pilzen *Uromyces caryophyllinus*, *Botrytis vulgaris* und *Macrosporium spec.* (von *Datura* isoliert) das erste am wenigsten widerstandsfähig gegen Gifte und gleichzeitig mit den dünnsten Sporenhäuten begabt, das letzte das widerstandsfähigste und mit den derbsten Sporenhäuten versehene ist.

Diese letzte Angabe führt uns zur Frage nach der **spezifischen**
40 **Widerstandskraft** verschiedener Pilze, die in den obigen Ausführungen schon wiederholt gestreift wurde, und deren Ursachen in fast allen Fällen noch vollkommen dunkel sind. Es sollen hier noch eine Anzahl von Beispielen aus dem Reiche der Schimmelpilze gegeben werden; vorher sei bemerkt, daß die Frage, inwieweit von den Pilzen erzeugte Gifte
45 ihren Erzeugern selbst weniger giftig sind als anderen Wesen, bereits auf S. 329 behandelt worden ist. Oft sind die Unterschiede in der spezifischen Widerstandskraft erstaunlich groß: Während nach CLARK (1) eine Normallösung von Nickelsulfat noch nicht imstande ist, den *Aspergillus flavus* zu töten, genügt eine Lösung von 1 Mol. in 128 Litern
50 bereits, um *Botrytis*-Konidien zu verderben. Bei Verwendung von Dichloressigsäure und anderen Giften tritt der spezifische Unterschied weniger deutlich hervor. *Penicillium glaucum* wird meistens als besonders widerstandsfähig angesehen. CLARK (1) rühmt z. B. die hohe

Widerstandskraft gegen Essigsäure; auch gegen Kupfersalze ist es, wie viele Forscher übereinstimmend finden, sehr wenig empfindlich. Daß auch sonst *Penicillium* neben anderen mit an erster Stelle steht, zeigt ein Hinweis auf die Angabe von CLARK (1), daß Formaldehyd, ein sehr starkes Pilzgift, dieses sowie auch *Aspergillus flavus* erst in einer Konzentration von 1 Mol. in 572 Litern tötet, *Aspergillus niger* und *Botrytis* schon in einer Lösung von 1 Mol. in 2048 Litern. PULST hatte einen gegen Kupfer ganz auffallend widerstandsfähigen Stamm von *Penicillium glaucum* unter Händen; dieser war gleichwohl gegenüber anderen Metallgiften, z. B. Thallium- oder Quecksilbersalzen, nicht widerstandsfähiger als manche andere Schimmelpilze, was uns vor Augen führt, daß man von Widerstandsfähigkeit schlechthin, ohne das Gift zu nennen, nicht wohl sprechen kann. Dafür noch einige Belege: CLARK (1) gibt an, daß *Penicillium* gegen Sublimat weit widerstandsfähiger als *Botrytis* ist, so daß es 16-mal soviel davon vertragen kann; benutzt man jedoch Silbersalze zur Vergiftung, so zeigt sich die Reihenfolge beider Schimmelpilze umgekehrt, *Botrytis* verträgt viermal so viel davon als der Pinselschimmel.

Die eben besprochene Erkenntnis, daß von einer Widerstandskraft ohne Rücksicht auf die Art des Giftes nicht gesprochen werden kann, läßt sich natürlich auch in die Form gießen: Die Kraft eines Giftes kann nur in Bezugnahme auf den Pilz, dem es dargeboten wird, gekennzeichnet werden. Zwei besonders giftige Metalle sind Silber und Quecksilber; welches ist giftiger? Dienen Zuchten von *Penicillium* oder *Oedocephalum* zur Lösung der Frage, so lautet die Antwort: Silber; sind aber *Aspergillus* oder *Botrytis* zu den Versuchen herangezogen worden, so erweist sich das Quecksilber als giftiger (CLARK). Aus demselben Grunde kann auch die zahlenmäßige Vergleichung zweier Gifte nicht ohne Rücksicht auf die Versuchspilze erfolgen.

Auch die verschiedenen **Entwicklungsstadien ein und desselben Pilzes** sind von verschiedener Widerstandskraft gegen Gifte. Für die vegetativen Zellen der Spaltpilze einerseits, die Sporen andrerseits ist das zu bekannt, als daß es sich lohnte, hier darauf einzugehen; es sei auf die Zahlenangaben verwiesen, die in allen bakteriologischen Handbüchern darüber Auskunft erteilen. Widerstehen im allgemeinen die Sporen oder andere Fortpflanzungszellen den Giften besser als die vegetativen, so gilt doch andrerseits, daß der Vorgang ihrer Bildung gegen Gifte meistens empfindlicher ist als das sterile Wachstum, wie auf S. 350 bereits ausgeführt wurde. Hier sei in dieser Beziehung noch an die von CHAPIN (1) ermittelten Zahlen, die Giftwirkung der Kohlensäure betreffend, erinnert: *Mucor*, der bei einem Gehalte der Luft von 30 Proz. Kohlensäure noch keimen und steril wachsen kann, bildet keine Sporangien mehr bei einem Gehalte von 10 Proz. Kohlensäure. *Aspergillus niger*, welcher bei 90 Proz. Kohlensäuregehalt noch wächst, bleibt steril, wenn mehr als 30 Proz. Kohlensäure vorhanden sind. Konidienträger ohne Konidien können bei einem Gehalte von 70 Proz. noch gebildet werden; überschreitet derselbe aber 85 Proz., so wird jeder Anlauf zur Fortpflanzung unterdrückt.

Ueber den Unterschied in der Empfindlichkeit der Vegetation mehrerer Schimmelpilze einerseits und der Fruktifikation andrerseits gegen Kupfer-, Nickel- und Zinksalze belehrt die folgende Tabelle v PULST (1), welche die oberen Grenzwerte angibt (1:2000 usw. b 1 Mol. in 2000 Litern).

	Mucor mucedo		*Aspergillus niger*		*Botrytis vulg.*		*Penicillium glauc.*	
	veget.	frukt.	veget.	frukt.	veget.	frukt.	veget.	frukt.
$CuSO_4$	1:2000	1:20000	1:2000	1:2000	1:2000	1:2000	1:0,75	1:0,75
$CuC_4H_4O_6$	1:1200	1:1000	1:10	1:10	1:10	1:10	—	—
$ZnSO_4$	1:2000	1:20000	1:200	1:200	1:200	1:200	1:0,75	1:0,75
$NiSO_4$	1:2000	1:20000	1:2000	1:2000	1:2000	1:2000	1:10	1:10

Wie man sieht, ist dieser Unterschied bei *Mucor* größer als bei den anderen Pilzen, ja bei diesen tritt er gar nicht hervor, wenn man, wie es in der Tabelle geschieht, nur die Grenzwerte und nicht auch die Zeit berücksichtigt, welche bis zum Erscheinen der Fortpflanzung verläuft. Achtet man auch auf diese, so zeigt sich, daß bei einer Konzentration von 1 Mol. des Zink-, Nickel- und Kupfersulfates in etwa 2000 Litern das Keimen und das Wachstum in zeitlicher und formaler Hinsicht noch durchaus normal erfolgt, die Bildung von Fortpflanzungsorganen bei *Aspergillus, Botrytis, Penicillium* aber stark verzögert wird, bei *Mucor* sogar überhaupt nicht eintritt. Stärkere Konzentrationen (etwa 1 Mol. in 1000 Litern) machen dann das Auskeimen von *Mucor* unmöglich; bei den anderen erfolgt es verspätet. Ist somit in den meisten Fällen die Fruktifikation empfindlicher als die Vegetation, so kann es doch auch Durchbrechungen dieser, wie jeder anderen biologischen Regel geben. Nach Clark (1) scheint es, daß beide Funktionen bei *Aspergillus flavus* durch Salzsäure ziemlich gleich stark in Mitleidenschaft gezogen werden. Beachtenswert ist auch, daß nach demselben Forscher Kaliumchromat und Bichromat, sowie ganz besonders Formaldehyd, sobald sie überhaupt eine noch so kleine Mycelflocke aufkommen lassen, auch immer Konidienbildung an derselben auslösen (*Penicillium* u. a.).

Dienen zum Ausgangspunkt von Kulturen, welche über Giftwirkung belehren sollen, Dauerzustände, Sporen usw., so ist deren **Alter** nicht außer acht zu lassen, da mit ihm die Empfindlichkeit wechseln kann. Es genüge hier die Erfahrung von Paul und Krönig (1 u. 2) anzuführen, daß Milzbrandsporen, wenn sie nach ihrer Ausbildung im Trockenzustande aufgehoben werden, zunächst an Widerstandskraft schnell zu-, dann aber langsam und stetig abnehmen. Diese Abnahme kann dadurch in sehr weitgehendem Maße hintangehalten werden, daß man die Sporen bei niederer Temperatur aufbewahrt.

Die Behandlung der Frage nach der **Anpassungsfähigkeit** der Pilze an Gifte soll den Schluß dieses Paragraphen bilden. Man vgl. auch oben S. 366. Kossiakoff (1) gelang es, den Heubazillus und den Milzbranderreger an allmählich gesteigerte Giftmengen zu gewöhnen. Nach Galeotti (1) stellt sich beim Züchten des *Bac. prodigiosus* auf Gelatine, welcher 2 Proz. Phenol zugesetzt werden, die zunächst abhanden gekommene Fähigkeit zur Farbstoffbildung nach der neunten Generation wieder ein. Viele weitere Belege finden sich in der medizinisch-bakteriologischen Literatur. Ueber die Anpassungsfähigkeit der Bakterien an Säuren vergleiche man Flügge (1). Von der Fähigkeit der Hefen, sich an Gifte zu gewöhnen, handelt das 6. Kap. des IV. Bandes des vorliegenden Handbuches. Eine in diesen Zusammenhang gehörige Arbeit über Schimmelpilze verdankt man Pulst (1), welcher ontogenetische und phylogenetische Anpassung unterschied, je nachdem ein ausgekeimtes Mycel sich allmählich an das

Gift gewöhnte, oder erst die Fortpflanzungszellen eines, bei Giftzusatz kümmerlich gedeihenden Mycels ein bei Zusatz desselben Giftes besser gedeihendes Mycel hervorbringen. Eine ontogenetische Anpassung ohne äußerlich sichtbares Wachstum liegt außerdem bereits in allen den Fällen vor, in denen Konidien bei Zusatz eines Giftes erst nach längerer 5 als der üblichen Zeit auskeimen. PULST macht hierüber viele Zahlenangaben. Es seien auch noch die folgenden Befunde von CHAPIN (1) erwähnt: *Mucor*-Sporen, die normalerweise nach etwa 24 Stunden auskeimen, treiben, falls die Luft neben Sauerstoff 40 Proz. Kohlensäure enthält, erst nach 17 Tagen aus, falls 50 Proz. Kohlensäure und ebenso 10 viel Sauerstoff vorhanden ist, sogar erst nach 24 Tagen. Bei dem widerstandsfähigeren *Aspergillus niger* war erst bei 90 Proz. Kohlensäure und 10 Proz. Sauerstoff eine Verlangsamung der Auskeimung zu beobachten. Phylogenetische Anpassung konnte PULST nur an *Penicillium glaucum* beobachten, und zwar Anpassung sowohl der Vegetation wie 15 der Fruktifikation, indem er Züchtungen mit allmählich steigendem Giftzusatze vornahm. Die Einzelheiten seiner Ergebnisse sind im Originale nachzulesen. Im allgemeinen war die Anpassung dann am weitesten zu treiben, wenn Generation auf Generation mit allmählich steigendem Giftzusatze gezüchtet wurde; eine wenngleich geringere Hinausschiebung 20 der Grenze ließ sich aber auch durch längeres Züchten des Pilzes auf Giftlösungen ohne allmähliche Steigerung des Giftzusatzes erreichen.

In den Fällen, in welchen eine Hinausschiebung der Grenzkonzentrationen nachweisbar ist, liegt ganz zweifellos eine Transformation (vgl. S. 367), wenigstens eines Teiles des Versuchsmateriales vor. Voraus- 25 setzung für die Richtigkeit dieser Annahme ist allerdings, daß nicht etwa von vornherein in dem Sporenmaterial einige besonders widerstandsfähige Individuen gewesen sind, aber, sei es daß ihre Zahl oder ihre Keimungsgeschwindigkeit zu gering war, zunächst der Aufmerksamkeit entgingen und aus irgend welchen Gründen erst in den späteren Versuchsreihen 30 aufkamen. Daß neben Transformation Selektion, wenn auch unbewußte Auslese, vielfach bei derartigen „Anpassungen" eine Rolle spielen kann, das lehrt mit vollkommener Sicherheit die Beobachtung, daß das zu Kulturen benutzte Sporenmaterial meist von vornherein sehr ungleichmäßige Widerstandskraft besitzt. Man beachte z. B. die Zahlenangaben 35 bei PAUL und KRÖNIG (1 u. 2), aus denen ersichtlich ist, daß mit steigender Giftbehandlung nicht ein bestimmter Punkt erreicht wird, an dem alle Sporen getötet werden, vielmehr eine allmähliche Tötung stattfindet. Diese Forscher versuchten im Anschluß an diese Erfahrung, durch künstliche Zuchtwahl giftfeste Milzbrandbazillen zu züchten, in- 40 dem sie von solchen Kolonien abimpften, welche noch bei starkem Sublimatgehalt erwachsen waren. Ein Erfolg war diesen Bemühungen allerdings nicht beschieden. Aehnliches gilt für Schimmelpilze, und für manche derselben scheint eine ungleichstarke Widerstandskraft der Sporen usw. gegen Gifte sogar spezifisches Merkmal zu sein; STEVENS (1) 45 hat einige Bemerkungen darüber gemacht.

Wie nun auch diese Anpassungen an Gifte zustande kommen und zu deuten sein mögen — dieselben sind nie als erblich fixiert befunden worden. Vielmehr klingen sie, wenn der Pilz wiederum ohne Gift kultiviert wird, ebenso schnell wieder aus, als sie erworben wurden. Es ist frag- 50 lich, ob vielleicht bei noch längerer Zucht mit Giftzusatz, als sie bis jetzt versucht wurde, sich eine erblich fixierte Giftfestigkeit erzielen ließe.

§ 109. Giftwirkung und Lösungszustand.

Der Einfluß des Lösungsmittels auf die Wirksamkeit von Giften ist bekannt, seit R. Koch (1) entdeckte, daß viele Gifte, wenn sie nicht in Wasser sondern in Aethylalkohol, Methylalkohol, Aether, Aceton gelöst 5 werden, ihre Kraft ganz oder teilweise einbüßen. Auch Lösungen von Giften in Serum oder anderen eiweißreichen Flüssigkeiten wirken minder stark als wässrige; und Behring (1) erwies, daß dies auch dann zutrifft, wenn durch Weinsäurezusatz jede Fällung verhindert wird. Durch solche und andere Beobachtungen ist der Einfluß des Lösungszustandes 10 auf die Giftwirkung außer Frage gestellt, und es soll im folgenden gezeigt werden, inwieweit die elektrolytische Dissociationstheorie zur Erklärung derartiger Erscheinungen herangezogen werden kann.

Gelöste Stoffe befinden sich in einem dem Gaszustand vergleichbaren Zustand, die Gasgesetze können auf Lösungen übertragen und als 15 Lösungsgesetze bezeichnet werden. Es kann somit das Molekulargewicht löslicher Stoffe auch im gelösten Zustande durch Messung des osmotischen Druckes, der Siedepunktserhöhung oder der Gefrierpunktserniedrigung der Lösung bestimmt werden, da diese Größen ganz ebenso wie der Druck eines Gases von der Zahl der in einem bestimmten Volumen vor-20 handenen kleinsten Teilchen abhängen. Bestimmt man nun das Molekulargewicht von Nicht-Elektrolyten in gelöstem Zustande, so zeigt sich dies ebenso groß als das auf andere Weise ermittelte und in Uebereinstimmung mit den chemischen Tatsachen. Anders die Elektrolyte, wenn man deren Molekulargewicht in wässerigen Lösungen zu be-25 stimmen sucht. Dasselbe ist kleiner, als nach den sonstigen chemischen Ergebnissen möglich ist, d. h. es sind mehr kleinste Teilchen vorhanden, als nach den Gasgesetzen zu erwarten wäre. Vergleicht man also verdünnte Lösungen von Elektrolyten und Nichtelektrolyten, in denen die Stoffe im Verhältnis ihrer Molekulargewichte gelöst sind, 30 untereinander, so führen die ersteren, wie ihr größerer osmotischer Druck und die stärkere Abweichung von Siede- und Gefrierpunkt des reinen Lösungsmittels zeigt, im selben Volum eine größere Zahl kleinster Teilchen als die letzteren. Nur bei diesen sind die kleinsten Teile die Moleküle, bei jenen aber nur Bruchteile der Moleküle.

35 Dies erklärt die **Arrhenius'sche Dissociationstheorie** mit der Annahme, daß schon durch den Lösungsvorgang, nicht erst durch den elektrischen Strom, die Moleküle von Elektrolyten zum Teil in kleinere Teile, die „Ionen“ zerfällt werden, „dissociieren“. Ein Salz zerfällt zum Teil in die elektropositiven, nach dem negativen Pole wandernden 40 Kationen (Metall) und die elektronegativen, nach dem positiven Pol wandernden Anionen (Säurerest), ein anderer Teil des Salzes ist in der Form undissociierter Moleküle vorhanden. Säuren sind Salze, deren Kation das Wasserstoff-Ion H, Laugen sind Salze, deren Anion das Hydroxyl-Ion OH ist. Der Dissociationsgrad in einer Lösung wird durch 45 das Massenwirkungsgesetz geregelt: Das Produkt der Anionen und Kationen, dividiert durch die Zahl undissociierter Moleküle, ist eine von der Temperatur, der Konzentration und der spezifischen Natur des Salzes abhängige Konstante. Die Konzentration wirkt derart, daß mit ihr die Dissociation sinkt; z. B. ist die Salzsäure in einer Konzentration von 50 1 Mol. im Liter etwa zu 80 Proz. dissociiert; bei einer Lösung von 1 Mol. in 1000 und mehr Litern ist die Dissociation eine annähernd vollständige.

Was den Einfluß der spezifischen Natur auf den Dissociationsgrad anbelangt, so läßt sich derselbe dahin zusammenfassen, daß ein Stoff um so stärker dissociiert zu sein pflegt, je reaktionsfähiger er ist. Die Reaktionen, die zwischen gelösten Elektrolyten stattfinden, sind Ionen-Reaktionen. Säuren verdanken diesen ihren Charakter dem Vorhandensein von Wasserstoff-Ionen; je stärker deren Konzentration, um so stärker ist die Säure. „Starke Säuren" sind in einer Konzentration von 10 Litern etwa zu 80 bis 90 Proz. dissociiert, mittelstarke, z. B. Essigsäure oder Phosphorsäure oder Ameisensäure, zu etwa 10 Proz., schwache, z. B. die Blausäure, fast gar nicht. Dasselbe gilt für Basen. Kali- und Natronlaugelösungen enthalten als die starker Basen viele Hydroxyl-Ionen, Ammoniumlösungen als die einer schwachen Base nur wenig. Neutralsalze starker Säuren und Basen (z. B. Alkalichloride, -Nitrate) sind ebenfalls stark dissociiert, etwa ebenso stark als starke Säuren; andere Salze, z. B. die des Quecksilbers, viel weniger stark. Auch reines Wasser dissociiert, wenngleich nur in sehr geringem Betrage, in die Ionen H und OH. Diese hydrolytische Dissociation bewirkt, daß in wässeriger Lösung die Salze schwacher Säuren alkalisch, die Salze schwacher Basen sauer reagieren. Löst man Cyankalium, das Salz einer sehr schwachen Säure, in Wasser, so vereinigen sich die Cyan-Ionen der Lösung mit den Wasserstoff-Ionen des Wassers zu undissociierter Säure, da sie als Anionen einer sehr schwachen Säure nicht mit einer großen Zahl von Wasserstoff-Ionen bestehen können; dies bewirkt eine weitergehende Spaltung des Wassers, bis bei dem schließlichen Gleichgewicht ein Ueberschuß an Hydroxyl-Ionen, d. h. alkalische Reaktion der Lösung, vorhanden ist. In ähnlicher Weise werden bei Lösungen von Kupfersulfat die Hydroxyl-Ionen des Wassers durch die Kupfer-Ionen, d. h. Kationen einer schwachen Base, mit Beschlag belegt, und es bleibt schließlich ein Ueberschuß an Wasserstoff-Ionen, saure Reaktion in der Lösung, bestehen.

Aus dem oben genannten Massenwirkungsgesetz folgt, daß durch Zusatz eines Salzes zu einer Lösung eines anderen, das mit ersterem ein gleiches Ion hat, die Dissociation zurückgedrängt werden kann. Die Zahl der Ionen in einer Sublimatlösung nimmt ab, wenn Kochsalz zugefügt wird (nicht aber z. B. durch einen Zusatz von Natronsalpeter). Die Rückdrängung der Dissociation ist dann am stärksten, wenn die Dissociation des gelösten Salzes an sich schon nicht sehr groß ist, wie das z. B. bei Quecksilbersalzen zutrifft, und wenn das behufs Herabminderung der Dissociation zugefügte Salz selbst möglichst weitgehend dissociiert. Zusätze von Alkalichloriden oder von Salzsäure drängen die Dissociation des Sublimates stärker zurück als solche von Chloriden der Erdalkalien oder des Cadmiums, da sie viel stärker dissociiert sind als Magnesium-, Zink- und Cadmiumchlorid.

Es ist schließlich noch der Begriff des **komplexen Salzes** zu erläutern. Als Beispiel diene das Kaliumquecksilberjodid. Dasselbe dissociiert nicht wie einfache Quecksilbersalze derart, daß als Kation Quecksilber entsteht, vielmehr ist Kalium als Kation vorhanden, Quecksilber ist aber Bestandteil des „komplexen", nach der Anode wandernden Ions HgJ_4. Zwar dissociiert auch dies seinerseits wieder unter Auftreten freier Quecksilber-Ionen; immerhin ist aber diese Dissociation so gering, daß die Zahl der freien Quecksilber-Ionen in Lösungen derartiger komplexer Salze eine nur geringe ist.

Der eben geschilderte Ionenzustand ist nun, wie in vielen Fällen auch die volle Entfaltung der Giftwirkung, an wäßrige Lösung gebunden.

Nichts liegt somit näher, als der Versuch, beide in Parallele zu setzen und zu fragen, inwieweit die zur Vergiftung führenden Reaktionen ebenfalls Ionen-Reaktionen sind. Es sei zunächst ein Beispiel dafür angeführt, wie das geschehen kann: CLARK (1) findet, daß eine Lösung von 1 Mol. Salzsäure in 4 Litern die Konidien des *Aspergillus flavus* tötet, daß eine solche Lösung von Kaliumchlorid aber harmlos ist. Worauf beruht der Unterschied? Beide Stoffe sind bei der genannten Konzentration fast gleich stark dissociiert, d. h. zu 84 bzw. 89 Prozent. Chlor-Ionen sind also in beiden Lösungen in gleicher Zahl vorhanden, können die Giftigkeit der Säure nicht erklären, sind vielmehr als unschädlich zu bezeichnen. Es können also das Giftige in der Säurelösung nur die Wasserstoff-Ionen oder die undissociierten Moleküle oder beide sein, und falls bei hinreichender Verdünnung die Dissociation als praktisch vollkommen angenommen werden kann, ohne daß die Giftwirkung verschwindet, ist diese allein auf Rechnung der Wasserstoff-Ionen in der Säure zu setzen. Säurelösungen, die so stark verdünnt sind, daß ihre Dissociation als vollständig angesehen werden kann, wirken nun zwar auf Phanerogamen, nicht aber auf die meisten Pilze schädlich ein; bei der Untersuchung der letzteren muß man zu stärkeren Konzentrationen greifen, bei welchen die Dissociation nur unvollständig ist, etwa 90 Proz. beträgt. Nur an solchen läßt sich also die Giftwirkung des Wasserstoff-Ions auf Pilze messen und mit der anderer Ionen zahlenmäßig vergleichen. Wenn also, wie das geschehen ist, irgend ein Ion als 100mal so giftig als das Wasserstoff-Ion bezeichnet wird, so wäre der genauere Ausdruck der: das betreffende Ion sei ebenso giftig, wie 91 Wasserstoff-Ionen vereint mit 9 undissociierten Molekülen der Salzsäure.

Zu dem oben geführten Nachweis der Ungiftigkeit des Ions Chlor ist nun noch folgendes zu bemerken: er steht und fällt mit der Richtigkeit der Voraussetzung, daß die Ionen sich in ihrer Giftwirkung nicht gegenseitig beeinflussen. Statt das Ion Chlor als unbeteiligt an der Wirkung der Salzsäure zu erklären, könnte man nämlich auch annehmen, daß dasselbe in Gegenwart von Wasserstoff-Ionen giftig, in Gegenwart von Kalium-Ionen aber ungiftig wäre, d. h. eine katalytische Beeinflussung des Chlors durch Wasserstoff. Solche Annahmen wird man natürlich nicht ohne zwingende Gründe machen, da sie die Sachlage unnötig verwickeln, doch sei darauf hingewiesen, daß ähnlich wie bei anderen Problemen der allgemeinen Chemie auch bei der Deutung von Giftwirkungen zu der Annahme solcher katalytischer Ionenbeeinflussung gegriffen wurde, um die Ionenwirkung zu retten. CLARK (1) führt die stärkere Giftwirkung der Salpetersäure im Vergleich mit isohydrischen Lösungen anderer Säuren darauf zurück, daß in Salpetersäurelösungen nicht allein die Wasserstoff-Ionen wirken, vielmehr auch das Molekül HNO_3 Giftwirkung entfalte; das Ion NO_3 sieht er für harmlos an, da es, als Salpeter gelöst, keine Schädigung der Pilze zu erkennen gibt. NOYES (1) weist darauf hin, daß eine andere mögliche Erklärung die sei, daß auch in Salpetersäure nur die Ionen, nicht das undissociierte Molekül, giftig seien, und daß das Ion NO_3 katalytisch durch das Ion H in ein giftiges verwandelt würde, womit sich gleichfalls erklären ließe, daß die genannte Säure giftiger ist, als der Wasserstoff-Ionen-Konzentration ihrer Lösung entspricht.

Ob allerdings mit solcher Annahme viel gewonnen ist, sei dahingestellt. Da aber auf dem uns hier fernliegenden Gebiet der Tierphysiologie häufig Veränderungen der Giftwirkung eines Ions durch

andere gleichzeitig wirkende, z. B. des Kalium-Ions durch Gegenwart des Calcium-Ions, nachgewiesen worden sind (vgl. HÖBER [1]), da ferner auch auf dem Gebiete der Pilzkunde ähnliche Ionenbeeinflussungen nachweisbar sind (man vergleiche z. B. die auf S. 385 gegebenen Ausführungen über die Giftigkeit des Lithium-Ions, welche durch Gegenwart einer genügenden Zahl von Kalium-Ionen vernichtet werden kann), sei hier dieser kurze Hinweis auf die Möglichkeit einer katalytischen Ionenbeeinflussung eingeschlossen.

Jedenfalls steht aber soviel fest, daß selbst der überzeugteste Anhänger der Lehre, daß Reaktionen nur Ionenwirkungen sind, zugeben muß, daß bei einem so verwickelten Problem, wie es die Giftwirkung ist, nicht einzig und allein die Dichte der in einer giftigen Salzlösung vorhandenen Ionen in Betracht gezogen werden darf, um das Maß der Giftwirkung zu erklären; vielmehr spielen mannigfache andere Momente (Diffusionsverhältnisse, Umsetzungen mit Stoffen in dem Zellinnern usw.) mit. Zumal die Diffusion kann, worauf HÖBER (1) hinweist, insofern von großer Bedeutung sein, als in bestimmten Fällen undissociierte Salzmoleküle ins Innere eindringen und dort nach Spaltung in die Ionen ihre schädigende Wirkung entfalten können, während die ursprünglich vorhandenen Ionen „wirkungslos an der Oberfläche der Sporen abprallen". Es ist also die Frage der Ionendiffusion von der der undissociierten Moleküle zu trennen. Ferner macht NOYES darauf aufmerksam, daß man unterscheiden müsse ob die Ionen katalytisch wirken oder indem sie bei dem zur Vergiftung führenden Vorgang verbraucht werden. Im ersten Falle ist eine der Ionendichte proportionale Wirkung zu erwarten, vorausgesetzt, daß die Wirkung an der Oberfläche der Versuchsokjekte stattfindet oder keinerlei Diffusionsschwierigkeiten mitwirken. Im letzteren Falle können schwach dissociierte Verbindungen aber sogar kräftiger und schneller wirken als ionenreiche; denn bei ersteren werden nach Maßgabe des Ionenverbrauchs aus den noch undissociierten Molekülen sofort neue Ionen abgespalten, die also augenblicklich zur Stelle sind und ihre Wirkung äußern können. Bei letzteren, die von vornherein ionenreich sind, werden aber nach Verbrauch der Ionen neue nur durch verhältnismäßig langsame Diffusion an den Ort des Verbrauches nachdringen, so daß die Giftwirkung viel weniger schnell von statten gehen kann. Diese Bemerkungen führen uns also gleichzeitig wieder die Bedeutung der Zeit für die Giftwirkung vor Augen.

Wir wenden uns nun der Besprechung einzelner Arbeiten zu, in denen Zusammenhänge zwischen Giftwirkung und elektrolytischer Dissociation behandelt werden. Der erste Forscher, welcher deutliche Beziehungen zwischen **Giftwirkung und Lösungszustand** von Quecksilbersalzen entdeckte, war DRESER (1): Kaliumquecksilberhyposulfit und Natriumquecksilbersulfit, zu gärender Preßhefe zugesetzt, hemmten die Gärung selbst dann nicht, wenn die Konzentration des Quecksilbers in der Gärflüssigkeit eine weit größere war als in solchen, die wegen Sublimatzusatzes gärungsunfähig geworden waren. In drei Parallelversuchen entwickelte die Hefe bei Zusatz des erstgenannten Salzes 105, des zweiten 48,5, des Sublimates aber 0 ccm Kohlensäure. Auch Zusatz von Kaliumhyposulfit-Kristallen zu sublimathaltigen, darum gärungsunfähigen Lösungen ließ in diesen die Gärung erwachen, ohne daß sich infolge des Zusatzes Quecksilber ausgeschieden hätte. Hiermit war bewiesen, daß nicht lediglich die Gewichtsmenge, sondern auch die Verbindungsform, richtiger der Lösungszustand, von Bedeutung für die Wirksamkeit des

Giftes ist, und Dreser gab auch schon die heute noch gültige Erklärung: die geringe Wirkung der genannten komplexen Quecksilbersalze beruht darauf, daß das Quecksilber Bestandteil eines komplexen Anions ist. Die geringe Wirkung erklärt sich also aus der zu geringen Dichte der Quecksilber-Kationen.

Aus den Arbeiten von Paul und Krönig (1 u. 2) heben wir die folgenden Hauptergebnisse heraus. Es galt, den Tötungswert verschiedener Gifte für die Sporen des *Bacillus anthracis* und die Zellen des *Staphylococcus pyogenes aureus* auf den Lösungszustand der Gifte zurückzuführen. Viele Salze verschiedener Schwermetalle wirken wesentlich durch den Kationengehalt ihrer Lösungen. Wenn nur wenig Kationen vorhanden sind, sei es, daß das Salz sehr schwach dissociiert, oder daß man durch geeignete Zusätze ihre Dissociation zurückdrängt, oder daß das Metall Bestandteil eines komplexen Ions ist, ist die Lösung auch nur von schwacher Wirkung. Hierfür einige Beispiele: Das Quecksilberchlorid ist stärker dissociiert als das Bromid, dies stärker als das Cyanid; dementsprechend ist auch die Wirkung des ersten Salzes die kräftigste und schnellste, des letzten die schwächste. Wendet man komplexe Quecksilbersalze (Kaliumquecksilberchlorid, -bromid, -jodid, -cyanid) an, was den Vorteil bietet, daß man auch das sonst zu schwer lösliche Jodid mit vergleichen kann, so ist entsprechend der geringen Zahl von Quecksilber-Ionen die Wirkung eine weit schwächere, aber ebenfalls von dem Maße der Dissociation beherrscht. Man vergleiche dazu die zwei folgenden Tabellen, in welchen die Zahlen die Anzahl von Kolonien des *Bac. anthracis*, bzw. des *Staphylococcus* angeben, die sich nach Behandlung mit der Giftlösung auf Agarplatten entwickelten. Auf solchen, die mit gleich vielen, aber nicht mit Gift behandelten Sporen besät wurden, entwickelten sich ungezählt viele Kolonien (∞).

Versuchsobjekt:	Sporen von *Bac. anthracis*		*Staphylococcus*
Behandlungsdauer:	20 Min.	85 Min.	3 Min.
$HgCl_2$ in 64 Lit.	7	0	0
$HgBr_2$ „ „ „	34	0	
$Hg(CN)_2$ „ „ „	∞	33	6700

Versuchsobjekt:	Sporen v. *Bac. anthracis*
Behandlungsdauer:	90 Min.
HgK_2Cl_4 in 16 Lit.	0
HgK_2Br_4 „ „ „	5
HgK_2J_4 „ „ „	389
$HgK_2(CN)_4$ „ „ „	1935

Ferner wird, wie die Theorie erfordert, die Wirkung eines Quecksilbersalzes durch Zusatz eines ungiftigen Salzes mit einem gleichen Ion stark vermindert. Zusatz der ziemlich gleich stark dissociierten Körper Kaliumchlorid, Natriumchlorid, Salzsäure zu Sublimat drückt dessen Giftigkeit ziemlich gleich stark hinab; Zusatz von Natriumsalpeter ist

fast ohne Wirkung. Zusatz der weniger dissociierten Chloride der Erdmetalle oder des Cadmiums drängt die Dissociation des Sublimats weniger zurück als Zusatz der Alkalichloride, hemmt also die Giftwirkung auch nicht so stark; dabei ist allerdings zu bedenken, daß das Cadmium auch an sich giftig ist und seine Giftwirkung sich zu der des Quecksilbers 5 hinzugesellen kann. — Von den Silbersalzen wirken alle weitgehend dissociierten, wenn auch verschieden stark, so doch kräftig; bewirkt man aber durch Zusatz von Ammon, daß das Silber Bestandteil eines komplexen Ions wird, so verringert man dadurch auch die Giftwirkung stark. Goldchlorwasserstoffsäure und deren Natriumsalz sind sehr giftig, Zu- 10 satz von Natriumchlorid mindert diese Wirkung. Auch das komplexe Salz $HAuCl_4 + 5 KCN$ wirkt nur schwach, da die komplexen goldhaltigen Ionen ihrerseits nur schwach dissociieren. Kupfersalze wirken auf Milzbrandsporen überhaupt nur wenig; das Cuprum sulfuricum ammoniatum, welches keine Kupfer-Ionen enthält, ist ganz ohne Wirkung. Mit diesen 15 Ergebnissen stimmen diejenigen überein, welche PULST (1) mit komplexen Kupfersalzen erhielt (vgl. S. 490), und es darf nebenbei wohl bemerkt werden, daß ganz dasselbe nach den Untersuchungen von KAHLENBERG und TRUE (1) auch für die Wirkung von Kupfersalzen auf Phanerogamen gilt.

Neben dem Kation, dessen Wirkung in den eben geschilderten Fällen 20 überaus deutlich in die Erscheinung tritt, wirken nun aber sowohl das Anion wie das undissociierte Molekül bei der Giftwirkung mit. PAUL und KRÖNIG fanden beispielsweise, daß Silbersalze, obwohl sie in einer Konzentration von 4 Litern ziemlich stark und zwar gleichstark dissociiert sind, doch verschieden kräftig wirken. Auffallend ist ferner, daß 25 Quecksilbernitrat und -Sulfat, obwohl sie stärker dissociiert sind als das Chlorid, doch viel schwächer wirken als das letztgenannte. Während diese beiden Forscher auf eine Erklärung dieser Tatsache verzichten, sucht HÖBER (1) dieselbe darin, daß bei verhältnismäßig kurzer Einwirkung die Quecksilber-Ionen wirkungslos an der Oberfläche der Sporen 30 abprallen, während die lipoidlöslichen Moleküle ins Innere dringen und giftig wirken können (s. auch S. 495). Wenn auch diese Erklärung, zusammengehalten mit den eben erwähnten Erfahrungen über die starke Giftwirkung ionenreicher Lösungen, mehr den Charakter eines Notbehelfes an sich trägt, so weist sie doch mit sehr viel Recht darauf hin, 35 daß nicht nur der Lösungszustand einer Giftlösung als solcher sondern auch der Umstand, daß ihre Bestandteile schnell genug an den Ort der Wirkung gelangen können, von maßgebender Bedeutung für ihre Wirksamkeit ist.

Für die Wirkung von Säuren hatte schon BEHRING (1) ihre Acidität, 40 d. h. die Dichte der Wasserstoff-Ionen in ihren Lösungen, verantwortlich gemacht. PAUL und KRÖNIG finden, daß verdünnte Säuren tatsächlich wesentlich durch ihre Wasserstoff-Ionen wirken. Der *Staphylococcus pyogenes aureus* wird durch alle starken Säuren in einer Konzentration von etwa 18 Litern gleich stark geschädigt, während die Wirkung der Essigsäure, 45 d. h. einer mittelstarken Säure, in dieser Verdünnung zurücktritt. Um auch die Sporen des Milzbrandbazillus zu schädigen, muß man zu konzentrierteren Säurelösungen greifen, bei denen wegen des nunmehr geringeren Dissociationsgrades die Wirkung des Anions und des Moleküls neben der des Wasserstoff-Ions deutlich ist, d. h. die Wirkung geht dem Dis- 50 sociationsgrade nicht mehr genau parallel. So wirken Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Chlorsäure, obwohl ziemlich gleich stark dissociiert, doch verschieden stark. Oxalsäure wirkt schädlicher als die stärker

dissociierte Salzsäure, Flußsäure wirkt energischer als Salpetersäure, obwohl sie nur zu einem ganz geringeren Betrage dissociiert. Sehr deutlich war hinwiederum die Abhängigkeit der Giftwirkung der Laugen von ihrem Dissociationsgrade: die stark dissociierte Kalilauge wirkte 5 am stärksten, das schwach dissociierte Ammoniumhydroxyd am wenigsten; d. h. die Laugenwirkung ist wesentlich Wirkung des Ions Hydroxyl. Uebrigens ist dies für die genannten zwei Bakterien viel weniger giftig als das Ion Wasserstoff.

Auch Halogene zogen Paul und Krönig in den Bereich ihrer Unter- 10 suchungen. Dieselben wirkten so, wie aus ihrem sonstigen Verhalten zu schließen war, das Chlor am stärksten, das Jod am schwächsten. Jodlösungen wurden durch Zusatz von Jodkalium in ihrer Wirkung gehemmt, da das Jod mit den Jod-Ionen des Jodkaliums zu komplexen Ionen sich vereinigt.

15 Schließlich wurden auch einige organische Verbindungen untersucht, z. B. das Phenol. Dies dissociiert in geringem Maße in die Ionen H und C_6H_5O. Da das stark dissociierte Phenolnatrium harmlos ist, die Wasserstoff-Ionen andrerseits nur in sehr geringer Menge in Phenollösungen vorkommen, kann in diesen nur das undissociierte Molekül das giftige sein.

20 Die gesamten Ergebnisse, die wir besprachen, sind an wässerigen Giftlösungen gewonnen worden. Löst man die Gifte in Alkohol, d. h. verwendet man ionenfreie Lösungen, so erlischt damit die Giftwirkung. Immerhin gilt dies nur für Lösungen in starkem Alkohol (80 bis 90 Proz.); denn Paul und Krönig finden, daß Sublimat in 25-proz., ferner ganz be- 25 sonders Silbernitrat in 50-proz. Alkohol stärker als in wässeriger Lösung wirken. Inwieweit hierbei veränderte Diffusionsverhältnisse oder andere Fragen mitspielen, muß dahingestellt bleiben.

Gleichzeitig mit Paul und Krönig hatten zwei andere Forscher, Scheurlen und Spiro (1), mit gleicher Fragestellung gearbeitet und 30 dieselben Ergebnisse erhalten. Ihnen dienten als Testobjekte ebenfalls der Milzbranderreger, ferner der Typhusbazillus. Sie fanden, daß Metallsalze proportional der Ionen-Konzentration ihrer Lösungen wirkten, Sublimat stärker als Kaliumquecksilberhyposulfit, auch einfache Eisensalze besser als komplexe, ferner daß Kochsalzzusätze die Giftwirkung 35 des Sublimates beeinträchtigen. Diese wesentlich durch ihre Ionen wirkenden Gifte nennen sie Desinficientien erster Ordnung und stellen denselben die Desinficientien zweiter Ordnung gegenüber, welche als undissociierte Moleküle wirken. Als ein Beispiel dieser letzteren nennen sie ebenfalls das Phenol.

40 Es ist zu beachten, daß die eben besprochenen Arbeiten von Paul und Krönig, Scheurlen und Spiro wesentlich über den Tötungswert handeln. Bei Untersuchungen über den Hemmungswert, die Entwicklungshemmung, kommen die erstgenannten Forscher zu dem auffallenden Ergebnis, welches Behring schon ermittelt hatte, daß komplexe Salze 45 energischer hemmend wirken können als einfache. Sie finden, daß bei Verwendung von Bouillon oder Nährgelatine Sublimat in einer Verdünnung von 20000 Litern, Quecksilbercyanid aber schon in einer solchen von 30000 Litern die Entwicklung hemmt. Das Ergebnis, daß die Ionenkonzentration nicht für Hemmungswerte, sondern nur für Tötungs- 50 werte maßgebend sei, darf aber nicht verallgemeinert werden, da oben schon in der Arbeit Dreser's ein Beispiel dafür gegeben wurde, daß die Entwicklungshemmung auf die Ionen-Konzentration zurückgeführt werden kann.

Durch die oben besprochenen Arbeiten von PAUL, SPIRO und ihren Mitarbeitern war auf die Bedeutung der Ionentheorie für die Theorie der Giftwirkung helles Licht geworfen, und neuere Arbeiten drücken ihre Ergebnisse häufig in der Sprache der Dissociationstheorie aus. Es sei z. B. erwähnt, daß STEVENS, dessen Arbeit schon häufiger genannt 5 wurde, findet, daß starke Säuren entsprechend ihrem Gehalte an Wasserstoff-Ionen auf Pilze wirken, ebenso Kupfersalze entsprechend ihrem Gehalte an Kupfer-Ionen. Giftig erwiesen sich ferner unter den geprüften Ionen das Kation Hg, die Anionen CN, CrO_4, Cr_2O_7 und OH.

Auch CLARK (1) macht sehr eingehende Angaben über Beziehungen 10 zwischen Giftwirkung und Dissociationsgrad; wenn seine Ergebnisse in manchen Punkten den oben erwähnten von PAUL, KRÖNIG, SPIRO und SCHEURLEN widersprechen, so kann das nicht wundern, weil er Schimmelpilze anstatt Bakterien untersuchte und die Beobachtung des Hemmungswertes sowohl als des Tötungswertes im hängenden Tropfen, d. h. nach 15 wesentlich anderer Methode, vornahm. Im allgemeinen legt dieser Forscher mehr Wert auf die Wirkung der undissociierten Moleküle als seine Vorgänger; der Grundton, der seine Arbeit durchklingt, ist aber derselbe, daß die elektrolytische Dissociationstheorie häufig eine außerordentlich klare Darstellung der Ergebnisse von Vergiftungsversuchen gestattet. 20 In betreff der Einzelheiten sei auf die Abhandlung selbst verwiesen.

Eine Erscheinung, die uns nun zuletzt beschäftigen soll, gehört „in das große Gebiet der **Neutralsalzwirkung,** welches schon seit Jahrzehnten die Physikochemiker intensiv beschäftigt, ohne daß eine Lösung des Problems glückt“ (HÖBER [1]), nämlich die, daß die Wirkung von Gift- 25 lösungen durch Zusätze von Neutralsalzen verändert werden kann. Für viele hierher gehörige Fälle kann vorläufig eine Erklärung überhaupt nicht gegeben werden, so z. B. nicht für die Entdeckung von PAUL und KRÖNIG, daß Lösungen von Quecksilbernitrat oder -Sulfat durch Kochsalzzusätze so außerordentlich verstärkt werden können, daß sie selbst dem Sublimate nicht 30 mehr nachstehen. Diese Erscheinung ist nicht auf irgend eine Wirkung von Chlor-Ionen schlechthin zurückzuführen, da der Zusatz anderer Chloride unwirksam ist. Weitere Fragen der Neutralsalzwirkung haben aber, besonders dank den Bemühungen von SPIRO und BRUNS (1), auf Grund des Gesetzes von der Verteilung eines Stoffes zwischen zwei oder mehreren 35 Lösungsmitteln eine zunächst ausreichende Beantwortung erfahren. Es handelt sich hier um Beobachtungen, die ihren Anfang von dem SCHEURLEN'schen Befunde (1) nehmen, daß Lösungen von Phenol oder Kresol, die man bis zur Trübung mit Kochsalz versetzt, weit schneller und intensiver als wässerige wirken. Einprozentige Phenollösungen 40 töteten erst nach etwa 20 Minuten sämtliche ihrer Wirkung ausgesetzten Zellen von *Staphylococcus pyogenes aureus*, nach Zusatz von 24 Proz. Kochsalz schon nach 0,5 bis 1 Minute. Für Kresol mit oder ohne Zusatz von Kochsalz gilt ähnliches. Dieselben Erfahrungen machten später PAUL und KRÖNIG (1 u. 2); von Bedeutung ist, daß selbst dann, wenn 45 die Salzzusätze weit geringer bemessen werden, ihre verstärkende Wirkung deutlich ist, so daß die Möglichkeit ausgeschlossen sein dürfte, daß etwa Tropfen starker Karbollösungen, die in SCHEURLEN's Versuchen die Trübung der Lösungen bewirkten, mit dem Versuchsobjekte direkt in Berührung gelangten. Natriumsalze wirkten in den Versuchen der 50 genannten zwei Forscher stärker als Kaliumsalze, anorganische stärker als organische. Formaldehydwirkung konnte durch Salzzusatz nicht verstärkt werden. Die Erklärung gaben dann, wie erwähnt, SPIRO und

Bruns: sie fanden, daß solche Verstärkung der Giftwirkung nur dann eintritt, wenn die zugesetzten Salze (Elektrolyte) das Gift bei genügendem Zusatze aussalzen, d. h. bei geringerem Zusatze seine Löslichkeit in Wasser vermindern und dadurch seine Löslichkeit in dem anderen ihm zur Verfügung stehenden Lösungsmittel, als welches man allerdings nur mit einer gewissen Gewaltsamkeit das Protoplasma der Versuchsobjekte bezeichnen darf, erhöhen. Der „Teilungskoeffizient" wird zu gunsten des Protoplasmas und zu ungunsten des Wassers verschoben, das Gift wirft sich in größeren Mengen in das zu vergiftende Objekt und tötet es schneller. Folgende Befunde von Spiro und Bruns stützen diese Anschauung. Phenol ist durch Kochsalz aussalzbar, seine Giftwirkung wird dementsprechend auch durch Kochsalzzusatz gesteigert; Brenzkatechin kann nicht durch Kochsalz gefällt und gleichfalls auch nicht in seiner Wirkung verstärkt werden. Ferner zeigt sich, daß Salze um so stärker die Vergiftung fördern, je lebhafter aussalzend sie auf das Gift wirken.

Diese Tatsachen führen uns somit auf die eingangs dieses Paragraphen gestellte Frage nach dem Einfluß des Lösungsmittels zurück und zeigen, daß dieser nicht ausschließlich auf die Dissociation zurückzuführen ist, sondern daß auch noch der Teilungskoeffizient der Gifte zwischen Lösungsmittel und Protoplasma in Berücksichtigung zu ziehen ist. Hatten wir vorhin die Unwirksamkeit von alkoholischen Sublimatlösungen allein auf den Mangel von Quecksilber-Ionen in denselben zurückgeführt, so erkennen wir jetzt, daß noch der andere Punkt in Frage kommt: Sublimat ist in Alkohol leichter löslich als in Wasser, es wird sich also in einer geringeren Menge in das zu vergiftende Objekt hineinziehen, wenn es in Alkohol, als wenn es in Wasser geboten wird. Wenn gleichwohl oben darauf hingewiesen werden konnte, daß durch mäßige Alkoholzusätze die Wirkung von Sublimatlösungen gesteigert werden kann, so führt dies vor Augen, daß noch andere Faktoren (Diffusion usw.) in Betracht kommen, und zeigt also wiederum eindringlich, daß der Versuch verfehlt wäre, so außerordentlich verwickelte Vorgänge, wie es die Giftwirkungen sind, auf ein einziges, chemisch-physikalisches Gesetz zurückführen zu wollen.

Literatur

zum Kapitel Giftwirkungen.

*__Behring,__ (1) Bekämpfung der Infektionskrankheiten, Bd. 1, Infektion und Desinfektion, Leipzig 1894. *__Chapin,__ P., (1) Flora, 1902, Bd. 91, S. 348. *__Clark,__ J. F., (1) Bot. Gazette, 1899, Bd. 28, S. 289. *__Dieudonné,__ (1) Biolog. Centralbl., 1895, Bd. 15, S. 109. *__Dreser,__ H., (1) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 1893, Bd. 32, S. 456. *__Flügge,__ (1) Die Mikroorganismen, 2. Aufl., 1896, S. 457. *__Galeotti,__ G., (1) Lo sperimentale, 1892, Bd. 47; cit. n. Dieudonné (1). *__Geppert,__ J., (1) Berliner klin. Wochenschrift, 1889, Bd. 26, S. 789 u. 819. *__Höber,__ R., (1) Physik. Chemie der Zelle und der Gewebe, Leipzig 1902. *__Iwanoff,__ K. S., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 13, S. 139. *__Kahlenberg,__ L., und __True,__ R., (1) Bot. Gazette, 1896, Bd. 22, S. 181. *__Koch,__ R., (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1, S. 234. *__Kossiakoff,__ M. G., (1) Ann. Pasteur, 1887, Bd. 1, S. 465; cit. n. Dieudonné (1). *__Loew,__ O., (1) Ein natürliches System der Giftwirkungen. München 1893. *__Noyes,__ A. A., (1) Z. f. physik. Chem., 1901, Bd. 36, S. 613. *__Overton,__ E., (1) Vierteljahrsschrift d. naturf. Ges. Zürich, 1899, Bd. 44, S. 88. *__Paul,__ Th., (1) Z. f. physik. Chem., 1901, Bd. 37, S. 753. *__Paul,__ Th., und __Krönig,__ B., (1) Z. f. physik. Chem., 1896, Bd. 21, S. 414. — (2) Z. f. Hyg., 1897, Bd. 25, S. 1. — (3) Münchner med. Wochenschr., 1897, Bd. 12, S. 304. *__Pfeffer,__ W., (1) Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Bd. 1, Leipzig 1897, S. 86. — (2) Ebenda, Bd. 2, Leipzig 1904, S. 332. *__Pulst,__ C., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1902, Bd. 37, S. 205. *__Raulin,__ J., (1) Ann. des sciences nat., Bot., 1869, 5. sér., Bd. 11, S. 93. *__Scheurlen,__ E., (1) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 1896, Bd. 37, S. 74. *__Scheurlen__ und __Spiro,__ (1) Münchner med. Wochenschrift, 1897, S. 81. *__Spiro,__ K., und __Bruns,__ H., (1) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 1898, Bd. 41, S. 355. *__Stevens,__ F. L., (1) Bot. Gazette, 1898, Bd. 26, S. 377.

(Manuskript-Einlauf: 4. Juli 1904.)

20. Kapitel.

Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Organismen. (Symbiose, Metabiose, Antagonismus.)

Von Prof. Dr. J. BEHRENS.

§ 110. Allgemeines.

Nur äußerst selten finden wir in der Natur bei irgend einem Gärungs- oder Zersetzungsvorgange nur eine einzige Organismenart ohne oder mit verschwindend geringer Beimischung von anderen Arten tätig. Fast ausnahmslos treffen wir ein Gemisch von mehreren Arten und Formen, 5 aus dem nur künstlich die verschiedenen Arten rein zu züchten sind. Bis zu einem gewissen Grade beruht das Zusammenvorkommen mehrerer Arten von Gärungsorganismen allerdings wohl auf Zufall. Immerhin setzt das gemeinsame Vorkommen bereits stets voraus, daß das Substrat allen vergesellschafteten Organismen zusagende Bedingungen ihres Ge- 10 deihens bietet. Im übrigen aber sind die gegenseitigen Beziehungen der einzelnen Konstituenten solcher „Pflanzenvereine“ außerordentlich verschieden. Es ist denkbar (ob unter den Gärungsorganismen verwirklicht?), daß zwei zusammen vorkommende Organismen einander durchaus nicht beeinflussen, ganz unabhängig voneinander sind, und es 15 ist andrerseits denkbar, daß zwei und mehr Organismen derart aufeinander angewiesen sind, daß der eine ohne den anderen unter den vorliegenden Verhältnissen gar nicht existenzfähig wäre. Und zwischen beiden Extremen, gänzlicher Unabhängigkeit voneinander und gänzlichem Aufeinanderangewiesensein, gibt es alle Uebergänge. 20

Den ersten umfassenderen Versuch, die Wechselwirkungen von verschiedenen Organismen begrifflich zu fassen, verdanken wir FRANK (1), der als **Symbiotismus** das bloße Zusammenleben (Auf- oder Ineinanderleben) zweier verschiedener Spezies definiert und innerhalb des Symbiotismus zwischen Parasitismus, Pseudoparasitismus, Miete und Homobium 25 unterscheidet. Beim Parasitismus wird der eine Organismus vom andern ernährt, ohne daß er diesem dafür eine Gegenleistung bietet. Beim Pseudoparasitismus sind beide Organismen in der Ernährung durchaus unabhängig voneinander und besteht nur eine mechanische Verbindung, insofern der eine als Träger des anderen Organismus dient 30 (Epheu, der sich an Baumstämme heftet). Bei dem als Miete bezeichneten Verhältnis besteht ein Verhältnis wie zwischen Einmieter und Wirt; letzterer wird nicht geschädigt, obwohl der Einmieter im Körper des Wirtes wohnt und von ihm die rohen Nährstoffe bezieht (Mistel und Baum). Als Homobium (Konsortium GRISEBACH's [1] und 35 REINKE's [1]) bezeichnet FRANK endlich die Fälle, in denen die beiden Organismen, wie vielleicht bei den meisten Flechten die Alge und der Pilz, sich zu einem einfachen dritten Organismus verbunden haben, einander gegenseitig unentbehrliche Dienste leisten und nur als Organe des resultierenden Gesamtorganismus wirken.

Während Frank für den Begriff der Symbiose noch das enge Zusammenleben der beteiligten Organismen verlangt, ist de Bary (1) geneigt, jede gegenseitige Wechselbeziehung zwischen verschiedenen Organismen unter dem Ausdruck **Symbiose** zu begreifen, so z. B. auch die Beziehungen zwischen Blumen und Insekten. Mit dieser Erweiterung des Begriffes würde dann auch die Verbreitung der Hefe durch Insekten (Hansen, Wortmann, Berlese) zur Symbiose gehören. M. Ward (3) bezeichnet solche mehr gelegentliche, lose und vorübergehende Wechselbeziehungen als „disjunktive Association“ und unterscheidet von der eigentlichen Symbiose, dem gleichzeitigen Zusammenleben verschiedener Organismen, wobei eine gegenseitige Schädigung nicht eintritt, vielmehr der eine den anderen im Gedeihen fördert, die Metabiose und die Antibiose (Antagonismus de Bary's). Der Ausdruck **Metabiose** rührt von Garré (1) her und bezeichnet das eigenartige gegenseitige Verhalten verschiedener Organismen, bei dem der eine dem anderen erst den Nährboden vorbereitet, den Nährboden so verändert, daß der andere dann in diesem zu gedeihen vermag. Bei der Metabiose fällt das Wachstum der verschiedenen Organismen zeitlich nicht streng, sondern nur teilweise oder gar nicht zusammen. Das typische Beispiel der antagonistischen Wechselbeziehungen ist der Parasitismus. Es gehört dahin aber natürlich auch jede nachteilige Beeinflussung des einen Organismus durch den anderen.

Während die eben betrachteten Wechselbeziehungen die Leistung der Organismen nicht berücksichtigen, ist es anders mit einem Zusammenleben von Gärungsorganismen, welches, ohne Rücksicht auf die gegenseitigen Beziehungen der Mikroorganismen, nur mit Rücksicht auf die praktische Bedeutung der von den beteiligten Organismen gemeinsam hervorgebrachten Umwandlungen des Nährsubstrats unter den Begriff der „Symbiose“ gezogen ist. Der Typus dieser „symbiotischen“ Gärungen ist die Ingwerbiergärung, für welche M. Ward (1, 2) zuerst den Ausdruck Symbiose verwendet hat. Bei derselben ist neben Hefe *(Saccharomyces pyriformis)* auch ein Spaltpilz *(Bacterium vermiforme)* tätig, und durch die gemeinsame Tätigkeit beider Organismen, von denen der erstere alkoholische, der letztere Milchsäuregärung hervorruft, wird das Ingwerbier erzeugt. Insofern liegt allerdings hier eine gegenseitige Beeinflussung der beiden beteiligten Organismen vor, als nach M. Ward der *Saccharomyces pyriformis* viel kräftiger in Gegenwart des *Bacterium vermiforme* gärt als ohne dasselbe, und nur insofern könnte von einer echten Symbiose auch hier gesprochen werden. Aehnliche Verhältnisse, Pseudosymbiosen, wenn man will, liegen bei der Bereitung des Kefir sowie der belgischen Biere Lambic und Faro vor; in beiden Fällen und noch in manchen anderen handelt es sich wieder um das Zusammenarbeiten von Alkoholhefen mit Milchsäurebakterien. Inwieweit dabei die beteiligten Organismen sich gegenseitig beeinflussen, ist zunächst fraglich und noch nicht genügend bearbeitet. Dagegen handelt es sich bei den Mischgärungen, welche bei der Bereitung des japanischen Reisweins (Sake), des Arraks usw. verwendet werden, um echte Metabiosen: Die Stärke des Rohmaterials (Reis) wird durch Pilze (Aspergilleen, Mucorineen) verzuckert, der gebildete Zucker durch Alkoholhefen sofort vergoren. Bei der Natur des Rohmaterials ist die Zuckerbildung durch den Pilz die Vorbedingung für das Gedeihen der Hefe. Näheres über diese Verhältnisse werden das 9. und 13. Kapitel des V. Bandes bringen.

Bezüglich der Art und Weise, wie verschiedene Mikroorganismen,

abgesehen vom einfachen Nahrungsentzug, aufeinander einzuwirken vermögen, liegen zweierlei Möglichkeiten vor: Entweder ist die Wirkung eine chemische, an den Organismus selbst (Parasitismus) oder an Stoffe gebunden, welche der eine bildet resp. ausscheidet, und deren Vorhandensein begünstigend oder hemmend auf den anderen Organismus wirkt, 5 oder aber sie ist physikalischer Natur, eine Theorie, die insbesondere NÄGELI (2) mit vielem Scharfsinn aufgestellt und verteidigt hat. NÄGELI knüpft an den Konkurrenzkampf von Hefe und Bakterien in neutralen Zuckerlösungen an, in denen an sich die Bakterien besser gedeihen als die Sproßpilze. Bei gleichzeitiger Einsaat von Hefen und 10 Bakterien, beiden in Spuren, gewinnen die letzteren bald die Oberhand, gleichgültig, wie die äußeren Verhältnisse gestaltet sind. Anders, wenn zunächst die Hefen und erst später, nach begonnener Alkoholgärung, die Bakterien eingeführt werden, oder wenn die Flüssigkeit mit viel Hefe neben wenigen Bakterien geimpft wird: Dann gerät die neutrale 15 Kulturflüssigkeit stets in alkoholische Gärung, die Hefe allein vermehrt sich, während die Bakterien nicht oder kaum wachsen. Da Bakterien in toter Hefe, in Hefenabkochungen u. dgl. gedeihen, so hält NÄGELI eine stoffliche Beeinflussung der Bakterien für ausgeschlossen und kommt zu der Ansicht, daß die Gärungsbewegungen selbst, die Schwingungen, 20 welche nach NÄGELI's Gärungstheorie (s. S. 20) von der Hefenzelle ausgehen und das Zuckermolekül in Alkohol und Kohlensäure spalten, die Spaltpilze an der Vermehrung und Entfaltung der ihnen eigenen Gärtätigkeit hindern und die Konkurrenz zugunsten der Hefe entscheiden. Dementsprechend fand er denn auch bei gleichem Vorgehen in zucker- 25 freien Nährlösungen stets die Bakterien siegreich im Konkurrenzkampf. Nachdem die NÄGELI'sche Gärungstheorie selbst sich als unzureichend erwiesen hat, hat natürlich auch diese Ansicht von der Bedeutung der spezifischen molekularen Gärungsschwingungen jede Bedeutung verloren. Wir kennen nur Beeinflussungen stofflicher Natur und suchen jede gegen- 30 seitige Beeinflussung von Gärungsorganismen durch solche zu erklären.

Unter den verschiedenartigen Associationen von Mikroorganismen unterscheiden wir, zum Teil nach PFEFFER (1), folgende hierher gehörige **Einzelfälle der Symbiose** im weiteren Sinne:

1. Die konjunkte Symbiose, bei der der eine Organismus dem 35 anderen direkt die Nahrung entzieht; wir nennen das Verhältnis Mutualismus, wenn das Zusammenleben allen Organismen des Konsortiums zum Vorteil gereicht wie vielfach wohl bei dem klassischen Typus, dem Flechtenkonsortium, und Parasitismus, wenn nur einer der Symbionten Vorteil hat, der andere ihm als Nahrungsquelle dient. 40

2. Die disjunkte Symbiose, bei der zwischen den beiden Organismen eine feste Verkettung nicht stattfindet, die ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte des einen aber das Gedeihen des anderen günstig (Metabiose) oder ungünstig (Antagonismus) beeinflussen, als besonders geeignete Nährstoffe zu dienen vermögen oder giftig bezw. 45 schädigend wirken.

Es ist selbstverständlich, daß diese von uns unterschiedenen Kategorien der Wechselbeziehungen künstlich geschaffen sind und die Verhältnisse in der Natur nicht erschöpfen, wenn sie sich ihnen auch anschließen. Insbesondere sind die verschiedenen Formen der Symbiose keineswegs 50 immer streng geschieden, sondern vielmehr durch Uebergänge verbunden.

§ 111. Gegenseitige Beeinflussung verschiedener Individuen derselben Art. Nikitinsky's Untersuchungen.

Schon zwischen verschiedenen Individuen derselben Art von Gärungsorganismen ist eine verschiedene gegenseitige Beeinflussung bei Wachs-5tum neben- oder nacheinander auf dem gleichen Substrat denkbar. Am natürlichsten erscheint und am verbreitetsten ist wohl die Ansicht, daß die eigenen Stoffwechselprodukte schädlich sind; beispielsweise sistiert die Anhäufung von Alkohol das Wachstum der Hefe, die der Milchsäure das der Milchsäurebakterien usw. Insbesondere Duclaux (1) hat es als 10allgemeines Gesetz ausgesprochen, daß der Nährboden, in dem ein Gärungsorganismus wächst, für ihn selbst von Generation zu Generation ungünstiger wird. Danach wäre zweifellos zu erwarten, daß zwei Individuen derselben Art sich gegenseitig ungünstig beeinflussen müssen. Schon ältere Untersuchungen haben das indes nicht bestätigt: Das 15Wachstum von Tuberkel- und Cholerabazillen in einem Nährboden ist vielmehr nach Buchner (1) und Carnot (1) begünstigt, wenn in demselben bereits einmal dieselben Arten kultiviert waren. Von allgemeinen Gesichtspunkten aus hat neuerdings Nikitinsky (1) die Frage für eine Anzahl von Schimmelpilzen (*Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* und 20andere, *Rhizopus nigricans* usw.) behandelt, und er kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem zunächst etwas überraschenden Schluß, daß ganz allgemein bei den von ihm untersuchten Organismen das Gedeihen durch eine vorhergehende Kultur in resp. auf demselben Medium begünstigt wird, vorausgesetzt natürlich, daß für Konstanz des Gehalts 25an Nährstoffen gesorgt wird. Nicht nur wird dadurch die Schnelligkeit der Entwicklung und die Pilzernte günstig beeinflußt, sondern auch der ökonomische Koeffizient. Ausnahmen gibt es allerdings. Dieselben sind aber stets als Folge der Anhäufung von Säuren (Oxalsäurebildung, Freiwerden von Mineralsäuren bei Stickstoffzufuhr in Form anorganischer 30Ammoniaksalze) oder der Bildung von Alkalien (Stickstoffzufuhr in Form von Alkalinitraten, Kohlenstoffernährung durch Alkalisalze organischer Säuren) oder der Bildung giftiger Spaltungsprodukte (bei Ernährung mit gewissen Glycosiden, deren aromatisches Spaltungsprodukt giftig ist, z. B. Helicin u. dgl.) zu erklären. Diese Schädigungen treten also nur 35bei ganz bestimmten Ernährungsbedingungen ein und folgen keineswegs dem von Duclaux aufgestellten Gesetz. Obgleich Nikitinsky außer Schimmelpilzen auch Sproßpilze untersucht hat, und obgleich auch Thibaut (1) die Vermehrungsgeschwindigkeit von Hefe durch Zusatz der eigenen Gärungsprodukte, allerdings nur in der Menge von 20 Proz., 40gefördert fand, so wird man zunächst doch kaum wagen dürfen, die Resultate Nikitinsky's zu verallgemeinern. Dieselben dürften vielmehr auf die Notwendigkeit weiterer experimenteller Untersuchungen hinweisen, da nach den bisherigen Ergebnissen individuelle und örtliche Verschiedenheiten zu erwarten sein dürften. Hat doch Lesage (1) ein 45*Penicillium* mit sich selbst im höchsten Grade unverträglich gefunden; indem nicht einmal Sporenkeimung auf Agar erfolgte, der bereits zu einer Kultur gedient hatte. Die Hemmung schien dabei von einem flüchtigen Stoffwechselprodukt des Pilzes auszugehen; sie verschwand wenigstens, wenn der Nährboden der trockenen freien Luft ausgesetzt 50wurde. Der scheinbare Widerspruch zwischen den Ergebnissen, die Nikitinsky und Lesage für *Penicillium glaucum* erhielten, fände vielleicht

dadurch seine Erklärung, daß die beiden Forscher verschiedene Formen oder Rassen der Sammelspezies *Penicillium glaucum* verwendet haben. Nur kurz hingewiesen sei darauf, daß durch NIKITINSKY's Ergebnisse vielleicht die Erfahrungen WILDIERS (1) vom Nichtgedeihen von Hefe in einer rein mineralischen Nährlösung bei geringer Aussaat und von der Ermöglichung dieses Gedeihens durch Zusatz größerer Hefenmengen oder von Hefenwasser und Hefenabkochung erklärt werden, was WILDIERS durch das Fehlen eines für das Hefenwachstum absolut notwendigen unbekannten Körpers „Bios" in der mineralischen Lösung und sein Vorkommen in Hefe resp. Hefenabkochung erklären will.

Weiter hat NIKITINSKY (1) auch die gegenseitige Beeinflussung verschiedener Pilze durch ihre Stoffwechselprodukte untersucht, und zwar sowohl indem er sie nebeneinander, als auch indem er sie nacheinander in derselben Nährlösung kultivierte. Die benutzte Nährlösung enthielt als Kohlenstoffquelle stets Zucker. Unter diesen Verhältnissen beobachtete NIKITINSKY bei Kultur nacheinander im allgemeinen Beschleunigung des Wachstums der folgenden Art, genau so wie bei aufeinander folgenden Kulturen desselben Pilzes. Wo eine Hemmung zu beobachten war, beruhte diese stets auf Anhäufung von hemmenden Stoffen, die aber nicht als eigentliche Stoffwechselprodukte des Pilzes aufzufassen sind, sondern nur bei bestimmter Ernährung, allerdings infolge des Stoffwechsels, sekundär sich anhäufen, z. B. von freien Säuren bei Ernährung mit anorganischen Ammoniaksalzen als einzige Stickstoffquelle. Also auch in dieser Beziehung ergab sich dasselbe Resultat wie bei aufeinander folgenden Kulturen desselben Pilzes in demselben Substrat. Nicht zu allgemeinen Ergebnissen führten die Versuche über die gleichzeitige Konkurrenz verschiedener Gärungsorganismen im gleichen Substrat. Hier kommen die verschiedenartigsten Umstände in Betracht, wie das Verhältnis der Aussaatmenge, die relative Vermehrungsgeschwindigkeit der verschiedenen Organismen (DUCLAUX [2], NÄGELI [1], DUCHESNE [1]), die Ernährungsbedingungen, die Temperaturverhältnisse, der Aggregatzustand des Substrats, direkter Parasitismus usw. Alle diese Umstände wirken zusammen und machen unter Umständen das Ergebnis der Versuche schwer verständlich. Als NIKITINSKY *Aspergillus niger* (Temperaturoptimum bei 33—37 ° C) und *Penicillium glaucum* gleichzeitig auf seine Lösung aussäte, entwickelte sich bei 32—33 °, bei 25—26 ° und bei 20 ° C nur *Aspergillus*, bei 15—16 ° nur *Penicillium*, das bei 25—26 ° sein Optimum hat. *Citromyces*-Arten, die auf flüssigen zuckerhaltigen Nährböden gut gedeihen, werden auf festen Nährböden nach WEHMER (1) von anderen Schimmelpilzen leicht überwuchert. Man erkennt schon hieraus, daß die Wechselbeziehungen verschiedener Organismen keineswegs absoluter Natur sind, sondern daß sie, außer von ihren eigenen Eigenschaften, wesentlich von den äußeren Verhältnissen abhängen. Dementsprechend gelten die in den folgenden Paragraphen zu besprechenden Wechselbeziehungen nur für bestimmte Verhältnisse. Absoluter Natur würde höchstens der strengste Parasitismus sein, dessen Vorkommen aber fraglich ist.

Hervorgehoben sei, daß eine Verallgemeinerung auch für die von NIKITINSKY aus seinen Versuchen gefolgerte Begünstigung eines Organismus durch vorherige Kultur desselben oder eines anderen Organismus auf demselben Nährsubstrat kaum zulässig sein dürfte. Es sind doch nicht wenige Fälle bekannt, in denen die Stoffwechselprodukte eines Organismus für ihn selbst und für zahlreiche andere schädlich sind, z.

Alkohol, Milchsäure, Buttersäure usw., und im Nachfolgenden werden wir noch mehrere derartige Fälle zu betrachten haben. NIKITINSKY's Resultate können daher zunächst nur für die Verhältnisse Geltung beanspruchen, unter denen seine Versuche angestellt waren. So bildet ja 5 auch die Hefe das Gift Alkohol nur bei Ernährung mit Zucker, ist also nur in zuckerhaltigen und zwar genügend zuckerhaltigen Substraten mit sich selbst und mit zahlreichen anderen Gärungsorganismen unverträglich. Man vergleiche auch die Bemerkungen auf S. 344.

§ 112. Konjunkte Symbiose.

10 Fälle von echter Symbiose, bei der beide resp. alle beteiligten Organismen unbedingt aufeinander angewiesen sind, derart, daß der eine ohne den anderen nicht existenzfähig ist, sind unter den Gärungsorganismen selten. Vielleicht oder sogar wahrscheinlich gehört unter Umständen dahin als Mutualismus das Verhältnis der Leguminosen zu den Knöllchenbakterien, 15 das an anderer Stelle (s. 2. Kap. d. III. Bds.) eingehend behandelt wird. Man nimmt an, daß in diesem Falle die Knöllchenbakterien den Stickstoff der Luft binden und so bei Mangel an assimilierbaren Stickstoffverbindungen im Boden die Leguminose mit Stickstoff versorgen, während die Hülsenfrucht den Bakterien organische Substanz liefert. Ein exakter 20 Beweis dafür, daß die Sache sich genau so verhält, ist freilich noch nicht geliefert. Nach KOSSOWITSCH (1) scheint im Boden ein derartiges Verhältnis zwischen stickstoffsammelnden Bakterien und Bodenalgen zu bestehen. Die Art der Algen scheint dabei verschieden sein zu können. Wenigstens fand BOUILHAC (1) Bindung des freien Stickstoffs in Boden- 25 bakterien enthaltenden *Nostoc*-Kulturen, und H. FISCHER (1) fand *Azotobacter* äußerst reichlich in *Oscillarien*-Kolonien des Bodens. Es dürfte sich übrigens bei derartigen Gemeinschaften wahrscheinlich um eine Genossenschaft zahlreicher Organismen handeln, und außer symbiotischen Verhältnissen dürfte auch Metabiose dabei eine Rolle spielen. 30 Näheres darüber werden das 1. und 17. Kapitel des III. Bandes bringen.

Nicht ganz übergehen dürfen wir hier die Verhältnisse in den am Schlusse des 23. Kapitels zu erwähnenden **Mischkulturen** von aeroben und anaeroben Bakterien. Es ist seit PASTEUR bekannt, daß auch die in Reinkultur sauerstoffscheuesten Anaeroben bei vollem Luftzutritt, 35 selbst bei Luftdurchleitung in flüssigen Nährmedien üppig gedeihen, wenn neben ihnen aerobe Bakterien in demselben Medium wachsen. PASTEUR suchte das durch die Annahme zu erklären, daß die aeroben Bakterien in solchen Mischkulturen den Sauerstoff der Nährmedien absorbieren und so die Anaeroben vor der schädlichen Einwirkung des- 40 selben schützen. KEDROWSKY (1) glaubte indessen auf Grund seiner Versuche sich zu dem Schlusse berechtigt, daß auch die Gegenwart von durch Chloroform getöteten Bakterien das Gedeihen von Anaeroben bei Luftzutritt ermöglicht, und schreibt einem von den Aeroben gebildeten, im übrigen hypothetischen Enzym, das durch Alkohol aus- 45 gefällt wird, die bedingende Rolle bei der Aerobiose der Anaerobien zu. SCHOLTZ (1) und MATZUSCHITA (1) aber, welche den Versuch KEDROWSKY's wiederholten, kamen zu einem entgegengesetzten Resultat und nahmen daher wieder zu der Ansicht PASTEUR's ihre Zuflucht. Dieser scheinen aber bis zu einem gewissen Grade die Versuchsergebnisse 50 VON OETTINGEN's (1) zu widersprechen, der allerdings die Resultate von

Scholtz und Matzuschita bestätigen konnte, aber eine Entwicklung der Anaeroben nicht beobachtete, wenn die mit denselben geimpften Nährmedien mit anderen, welche mit Aeroben besät waren, in ein und demselben abgeschlossenen Raum gehalten wurden. Er bediente sich dazu einfacher U-Röhren, in deren einen Schenkel mit Aeroben (*Staphylococcus aureus*), und in deren anderen Schenkel mit Anaeroben (*B. tetani*) geimpfte Bouillon eingeführt, und die dann zugeschmolzen wurden. Trotzdem hier der Sauerstoff der eingeschlossenen Luft durch die Aeroben aufgezehrt wurde, blieb die Entwicklung der Anaeroben aus, trat aber ein bei Vermischung der beiden Kulturen oder bei Ersatz der eingeschlossenen Luft durch Wasserstoff. Bienstock (1) endlich, der mit sehr verschiedenen Aeroben und Anaeroben experimentierte und die Versuche Kedrowsky's wiederholte, kam im allgemeinen wohl zu einem negativen Resultat wie auch die anderen Nachuntersucher. Nur in einem einzigen Falle, wenn nämlich zunächst der aerobe *Bacillus pyocyaneus* auf Fibrin einige Tage eingewirkt und dasselbe etwas erweicht hatte, und wenn dann nach Abtötung des *B. pyocyaneus* durch Hitze (100° C) der *Bacillus putrificus coli* eingesät wurde, entwickelte sich dieser anaerobe Bazillus in Reinkultur bei vollem Luftzutritt. Dasselbe gelang mit allen Anaeroben, welche ähnliche Fäulnis erzeugen wie der *B. putrificus*, nicht aber mit anderen, z. B. *Bacillus tetani, B. perfringens* usw. Die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens der Anaeroben unter sich sowohl wie des *B. pyocyaneus* von den anderen Aeroben blieb dunkel. Die Verhältnisse in den Mischkulturen von Aeroben und Anaeroben sind also noch keineswegs aufgeklärt.

Daß wir es ablehnen, solche Fälle in den Begriff der konjunkten Symbiose einzubeziehen, in denen zwei oder mehr Organismen zur Erzielung eines Produktes zusammenwirken, ohne daß ein wirklich symbiotisches Verhältnis zwischen ihnen besteht, ist bereits im einleitenden Paragraphen dieses Kapitels hervorgehoben worden. Nur wegen der Eigenartigkeit erwähnen wir hier noch als einen höchst interessanten Spezialfall einer solchen Association verschiedener Organismen die von Nencki (1) studierte Bildung von Normalbutylalkohol aus Traubenzucker durch Mischkulturen des Rauschbrandbazillus und des *Micrococcus acidi paralactici*. Keiner der beiden Organismen bildet für sich allein in traubenzuckerhaltiger Nährlösung diesen Körper: der Rauschbrandbazillus bildet außer Wasserstoff und Kohlensäure Normal-Buttersäure und inaktive Milchsäure, der genannte Mikrokokkus fast ausschließlich optisch-aktive Paramilchsäure. In Mischkulturen entsteht außer all diesen Körpern in reichlicher Menge als neues Gärprodukt Normal-Butylalkohol. Hier muß also eine gegenseitige Beeinflussung eigentümlicher Art der beiden Organismen in Mischkulturen stattfinden, die übrigens dringend weiterer Bearbeitung bedürftig ist. Wo sonst in Mischkulturen Produkte auftreten, welche keiner der in ihnen vereinigten Organismen für sich allein liefern würde, da erklärt sich das allgemein in der Weise, daß der eine Organismus Stoffwechselprodukte des anderen zersetzt. So bilden in Salpeterlösung Mischkulturen des *Bacillus coli* und eines *Bacillus denitrificans I* nach Burri und Stutzer (1) freien Stickstoff, was keiner der beiden für sich allein kann, und es erklärt sich das dadurch, daß der *B. denitrificans I* Nitrite unter Entbindung von freiem Stickstoff zu reduzieren vermag, die durch die Tätigkeit des *B. coli* aus Nitraten entstehen. Es liegen hier Verhältnisse vor, welche unter dem Begriff Metabiose fallen würden.

Durch die Gegenwart von Hefe bedingt ist die Tätigkeit der säureverzehrenden Bakterien im Wein nach A. KOCH (1). Allerdings genügt die Gegenwart toter Hefe, so daß die Hefe nur als Nahrungsquelle dieser anspruchsvollen Bakterien zu dienen, und das Verhältnis derselben zur Hefe an Parasitismus zu grenzen scheint.

Ueber echten **Parasitismus** bei Gärungsorganismen ist nur wenig bekannt. Speziell Parasiten der Hefe, des vornehmsten Gärungsorganismus, kennen wir überhaupt nicht, wenn wir nicht die von CHRZASZCZ (1) untersuchte hefenfressende Amöbe dahin rechnen wollen. Echte Parasiten dürften übrigens an den natürlichen Fundstellen der Hefe (Risse süßer Früchte u. dgl.) kaum fehlen. Einen Bakterien fressenden Myxomyceten, *Dictyostelium mucoroides*, hat POTTS (1) neuerdings studiert und das von NADSON früher als Symbiose aufgefaßte Verhältnis des Pilzes zu den Bakterien als den charakteristischen „extremsten Parasitismus“, wenn man will, erkannt. Als Parasiten von Mucorineen (*Mucor*, *Phycomyces*) ist insbesondere durch BREFELD (1) eine Anzahl von Angehörigen derselben Ordnung aus den Familien der Chaetocladiaceen und Piptocephalideen (Arten der Gattungen *Chaetocladium* und *Piptocephalis*) bekannt geworden. Die Hyphen von *Chaetocladium* treten an den Berührungsstellen durch Auflösung der Membranen in offene Kommunikation mit den Mucorhyphen, während *Piptocephalis* an der Anheftungsstelle zwiebelig anschwillt und von diesen Anschwellungen aus feinste, verzweigte Wurzelfäden als Haustorien in die Wirtshyphen entsendet (*Fig. 70*). Uebrigens lassen sich diese *Mucor*-Parasiten auch saprophytisch kultivieren. Ferner parasitieren die Angehörigen der von VAN TIEGHEM aufgestellten Endomycetaceen-Gattung *Podocapsa* auf Mucoraceen. REINHARDT (1) hat eingehend beschrieben, wie beim Zusammentreffen der Hyphen von *Sclerotinia trifoliorum* und *Mucor mucedo* die *Sclerotinia*-Hyphen eigenartig beeinflußt werden. Oft wird ihr Wachstum zunächst sistiert; dann werden zahlreiche Quirläste gebildet (*Fig. 71, a*), welche auf die *Mucor*-Hyphe zuwachsen. Bei parallelem Wachstum der beiden Pilze werden von der *Sclerotinia* zahlreiche seitliche Zweige gebildet, welche auf den *Mucor* zuwachsen. In allen Fällen legen sich die offenbar unter dem Einfluß anlockender Ausscheidungsprodukte des *Mucor* gebildeten Zweige der *Mucor*-Hyphe an, umschlingen sie unter Umständen sogar (*Fig. 71, b*)

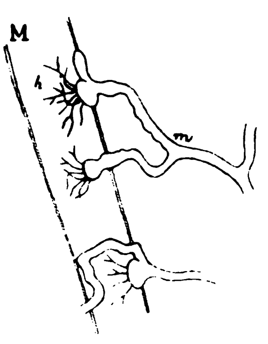


Fig. 70. *Piptocephalis Freseniana* DE BARY. Mycel (*m*) mit drei zwiebeligen Anschwellungen, welche feinfädige, zum Teil verzweigte Haustorien (*h*) in einen *Mucor*-Faden (*M*) entsenden. — Nach BREFELD.

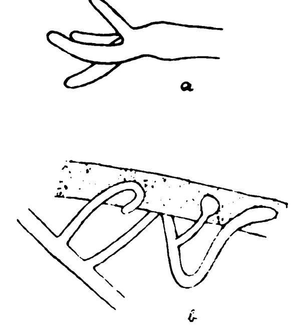


Fig. 71. *a*, Unregelmäßiges Auswachsen der Hyphenenden von *Sclerotinia trifoliorum* auf Grund eines von benachbartem *Mucor*-Mycel ausgeübten Reizes. *b*, Anfangsstadium der knäuelförmigen Umschlingung eines *Mucor*-Fadens seitens der *Sclerotinia*. In der *Mucor*-Hyphe ist der Zellinhalt angedeutet. — Nach REINHARDT.

und schließen sie schließlich vollständig ein. Die *Mucor*-Hyphe stirbt dabei bald unter Gelbfärbung des Inhalts ab, gleichgültig ob es sich um vegetative Hyphen oder um Sporangienträger handelt. Ebenso wurden die Hyphen von *Acrostalagmus cinnabarinus* und *Trichothecium roseum* von den *Sclerotinia*-Hyphen umschlungen und getötet. In der mistbewohnenden Mucorinee *Pilobolus crystallinus* hat ZOPF (1) die Chytridinee *Pleotrachelus fulgens* ZOPF gefunden. Zahlreiche parasitische Chytridineen der Abwasserpilze aus der Ordnung der Saprolegniineen (*Leptomitus*) hat A. FISCHER (1) beschrieben.

Unter den hier zu behandelnden Ascomyceten ist für den bekannten *Aspergillus Oryzae* eine parasitische Piptocephalidee, *Syncephalastrum racemosum* COHN, von SCHRÖTER (1) in Deutschland beobachtet und beschrieben. Eine *Melanospora fallax* ZUKAL (Ascomycet aus der Ordnung der *Hypocreales*) ist auf *Botrytis* gefunden worden und dürfte sich im Parasitismus vielleicht der von KIHLMANN (1) genau studierten *Melanospora parasitica* TUL. anschließen, die auf den insektenbewohnenden Pilzen (*Isaria*, *Cordyceps* u. dgl.) auftritt.

In größerer Zahl sind Parasiten der Hymenomyceten aus den Ordnungen der Mucorineen und Ascomyceten (*Endomyces decipiens*, *Hypomyces*-Arten u. a.) bekannt. Für die in diesem Werke in Betracht kommenden holzzerstörenden Pilze aus der Klasse der Polyporeen kommen insbesondere Arten von *Hypomyces*, *Hyprocrea*, *Melanospora* und *Nectria* in Betracht. Eine Aufzählung gibt LINDAU (1). Uebrigens ist das Verhältnis zwischen den Polyporeen und diesen Pilzen noch in keinem Falle näher verfolgt, wie denn das ganze Arbeitsgebiet des intensiveren Anbaues noch harrt.

§ 113. Disjunkte Symbiose.

Eine lückenlose Reihe verbindet den echten Parasitismus mit dem **Antagonismus.** Unter den hier in Betracht kommenden Fällen steht z. B. die von WEHMER (1) beschriebene Verdrängung der *Citromyces*-Arten durch *Penicillium luteum* ZUKAL dem Parasitismus sehr nahe. Gelangt nur eine Spore des *Penicillium* auf voll entwickelte *Citromyces*-Decken, so erscheint nach wenigen Tagen ein junger *Penicillium*-Rasen, der unter Abtötung des *Citromyces* in kürzester Zeit sich peripherisch ausbreitet. Wodurch die Abtötung geschieht, und ob die getöteten *Citromyces*-Hyphen als Nahrungsquelle benutzt werden, wie wahrscheinlich ist, harrt noch der näheren Untersuchung.

Die erste eingehende Untersuchung des Antagonismus von Pilzen resp. Pilzen und Bakterien verdanken wir REINHARDT (1). Nähert sich das Verhalten von *Sclerotinia* gegenüber *Mucor*, *Trichothecium*, *Acrostalagmus* nach REINHARDT mehr dem Parasitismus, so besteht dagegen echter Antagonismus zwischen *Penicillium glaucum*, *Aspergillus*-Arten (*Asp. flavus*, *A. niger*) und *Sclerotinia*. Nähert sich eine wachsende Hyphe der *Sclerotinia* einem Mycel der anderen, so treten Wachstumsstörungen auf; die Spitze der *Sclerotinia*-Hyphe stellt, oft unter kugliger Anschwellung, ihr Wac tum ein. Entstehen neue Zweige aus der Endanschwellung, so bi sie um und wachsen in entgegengesetzter Richtung von dem feindli Mycel fort (*Fig. 72*). Besonders *Penicillium*, aber auch in g Grade die Aspergilleen, wachsen dagegen in das Mycel der hinein, das dann allmählich abstirbt. Zu erklären ist d

als daß diese Pilze Stoffwechselprodukte bilden, welche für *Sclerotinia* schädlich sind. *Aspergillus niger* verhält sich am harmlosesten. Uebrigens treten auch bei diesen Pilzen unter dem Einfluß der Nähe des *Sclerotinia*-5 Mycels Wachtumsstörungen ähnlicher Art, wie in diesem selbst, auf, insbesondere blasige Anschwellungen und abnorm reichliche Verästelungen. Auch die beiden Aspergilleen und 10 Penicillien beeinflußten in Kulturen nebeneinander auf dem gleichen Substrat sich entschieden nachteilig.

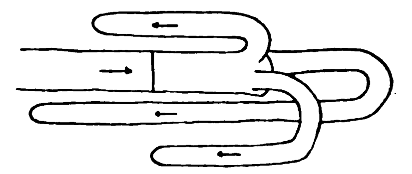


Fig. 72. Verhalten einer Hyphe von *Sclerotinia trifoliorum* gegenüber einem schwachwachsenden Mycel von *Aspergillus niger*. Die ursprüngliche Hyphe hat in 2 mm Entfernung von dem *Aspergillus*-Rasen ihr Wachstum eingestellt, eine Anschwellung gebildet und aus dieser drei Aeste entsendet, welche scharf umbiegen und rückwärts, von dem *Aspergillus* weg, wachsen. Die Pfeile bezeichnen die Wachstumsrichtung. — Nach Reinhardt.

Untersuchungen über den in Bierwürze zwischen *Saccharomyces* 15 *apiculatus* und Brauereiunterhefen bestehenden Antagonismus hat bereits Hansen (1) im Jahre 1881 mit dem Ergebnis angestellt, daß bei Mischkulturen die Vermehrung beider 20 Arten eine geringere war als in Reinkulturen. Eingehend hat Müller-Thurgau (2, 3) den Einfluß der Apiculatushefe auf Weinhefen untersucht. Der Antagonismus zeigte sich darin, daß der Zusatz von Apiculatus zur Reinhefe nicht nur die Hefeernte herabdrückt, sondern auch die Gärung hemmt. Müller-25 Thurgau ist geneigt, das auf die Bildung gärungshemmender Ester durch Apiculatushefe zurückzuführen. Ein Antagonismus besteht ferner nach Müller-Thurgau (1) und Behrens (1) zwischen Weinhefe und Schimmelpilzen: In Most, auf welchem *Penicillium* oder *Botrytis* gewachsen waren, war die Entwicklung und Gärtätigkeit eingeimpfter Hefe wesent-30 lich beeinträchtigt, auch wenn eine Weiterentwicklung der Pilze nach der Hefeneinsaat nicht stattgefunden hatte. Es erklärt dieser Antagonismus, der im Fall von *Botrytis* wohl ebenso, wie das im vorigen Paragraph erwähnte Verhalten von *Sclerotinia* gegen *Mucor*, auf die von de Bary (1) und Kissling (1) bereits nachgewiesene Bildung von Zellgiften durch 35 diese Pilze zurückgeführt werden darf, die verzögerte Entwicklung solcher Weine, welche aus edelfaulen (von *Botrytis* befallenen) Traubenbeeren erzeugt werden.

Ein ausgeprägter Antagonismus besteht nach Bonska (1) zwischen Bakterien der Gruppe des *Bac. subtilis* und Milchsäurebakterien: Sowohl 40 in zuckerhaltigen wie in zuckerfreien Nährmedien vermehren sich bei gleichzeitiger Einimpfung beide Arten zunächst lebhaft, die Milchsäurebakterien entsprechend ihrer spezifischen Vermehrungsenergie allerdings rascher. Später aber hört die Vermehrung der Subtilisarten gänzlich auf und geht ihre Zahl sogar rapide zurück. Daß nicht die Milchsäure-45 anhäufung allein daran schuld ist, wird dadurch bewiesen, daß der Rückgang der Subtilisformen auch bei Konkurrenz in zuckerfreier oder in stark alkalischer Lösung sich einstellt. Der Antagonismus zwischen dem Bazillus der Wasserstoff- und dem der Methangärung der Cellulose hat nach Omeliansky's Untersuchungen (1) zur Folge, daß in jedem 50 Falle immer nur die eine Gärung sich einstellt und nie Mischgärungen zustande kommen. Entwickelt sich die eine Art, so bleiben die Sporen der anderen im Ruhezustande, und umgekehrt.

Der Antagonismus von Hefe und Essigbakterien ist bereits erwähnt

worden. Der Einfluß der Essigsäure ist von LAFAR (1) näher untersucht und wird im IV. Bande näher besprochen werden. Natürlicher Essig, lebende Essigbakterien enthaltend, wirkt nach beiläufigen Versuchen viel energischer hemmend als der Eisessig der chemischen Fabrik (BEHRENS [2]). Der Antagonismus zwischen Hefe und Essigbakterien 5 darf daher nicht allein auf die Essigsäureproduktion der letzteren zurückgeführt werden. Des Antagonismus zwischen Milch- und Buttersäurebakterien bediente man sich früher in der Brennerei stets, um die für die Hefe sehr nachteilige Entwicklung der Buttersäurebakterien mittels Förderung der Milchsäuregärung in der Maische (durch höhere Temperatur 10 oder besser durch Einsaat von Milchsäurebakterien) zu verhindern. Die Milchsäurebakterien selbst verhalten sich gegenüber der Hefe ziemlich unschädlich, wie HENNEBERG (1) neuerdings für einige Brauerei- und Brennereihefen gezeigt hat, während einige aus fauler Preßhefe gezüchtete Heu- und Fäulnisbazillen, *Oidium lactis* und *Penicillium glaucum* 15 sehr schädlich auf die Hefenzellen wirkten, dieselben zum frühzeitigen Absterben brachten. Nähere Angaben darüber bringt das 11. Kapitel des V. Bandes. Siehe auch die Bemerkungen auf S. 330 des vorliegenden Bandes.

Diese Beispiele mögen genügen. Es sei nur noch darauf hingewiesen, 20 daß unter Umständen es möglich sein wird, des Antagonismus verschiedener Arten sich zu bedienen, um eine derselben in Reinkultur zu erhalten. Zum Teil beruhen darauf die Methoden der Anreicherungszüchtung und der fraktionierten Kultur, die im 22. Kapitel dieses Bandes behandelt werden. Es sei noch im Vorbeigehen erwähnt, daß 25 WEIGMANN (1) direkt den (vermuteten) Antagonismus einer Art gegenüber sich selbst bei successiven Kulturen im gleichen Nährmedium benutzt hat, um aus einem Gemisch zweier Käsebakterien, von denen nur die eine (*a*) sich leicht in Reinkulturen gewinnen ließ, die andere (*b*) zu isolieren: Er säte das Gemisch immer wieder in Milch ein, in welcher 30 vorher die Bakterie *a* in Reinkultur gewachsen, und die dann wieder sterilisiert war, und erhielt dadurch wirklich eine Anreicherung von Bazillus *b*. Zu dem gewünschten Ziele, zu einer Reinkultur von *b*, führte der Weg freilich nicht.

Es wäre sonderbar, wenn nicht gelegentlich die Ansichten der 35 medizinischen Bakteriologie, welche die pathogenen Bakterien und ihre Träger außer mit Toxinen und Antitoxinen noch mit Lysinen und Dyslysinen, Alexinen, Agglutininen und anderen baktericiden Körpern (Enzymen) als Angriffs- und Verteidigungswaffen im Konkurrenzkampfe ausstattet (s. Bd. III, S. 113—116), auch auf das Gebiet der technischen 40 Mykologie übergreifen würden. Indem wir als auf eine vorzügliche kritische Darstellung dieser Theorien auf A. FISCHER (1) hinweisen, sei hier nur erwähnt, daß nach EMMERICH und LOEW (1) speziell dem verbreiteten *Bacillus pyocyaneus* in einem von ihm gebildeten, durch Alkohol fällbaren „Enzym", der Pyocyanase, auch Pyocyanolysin genannt 45 (s. S. 272), ein furchtbares Mittel im Konkurrenzkampf mit anderen Bakterien zu Gebote stehen würde. Die durch Alkohol fällbare Pyocyanase, die — ein Enzym eigener Art! — sogar Siedehitze in wässeriger Lösung eine halbe Stunde vertragen soll, tötet nämlich alle Konkurrenten äußerst schnell und löst sie auf. Andere Beobachter allerdings, DIETRICH (1) 50 und KLIMOFF (1), bestätigen wohl die baktericiden Eigenschaften filtrierter *Pyocyaneus*-Kulturen, wollen indes von der Pyocyanase nichts wissen und suchen die angebliche Wirkung derselben in anderer Weise zu erklä-

ohne daß allerdings ihre Erklärungsversuche auf viel festeren Füßen ständen. Eine im Betriebe der Preßhefenfabriken lästig auftretende Flockenbildung, eine Art Agglutination der Hefe, die sich in Flocken zusammenballt und zu Boden setzt, ist nach BARENDRECHT (1) auf eine Infektion mit einem schleimbildenden Kugelbakterium, *Leuconostoc agglutinans*, zurückzuführen und als Zusammenkleben der Zellen mittels des von dem Leuconostoc gebildeten Schleimes aufzufassen. Hier kommt also ein rätselhaftes Agglutinin keinenfalls in Frage.

Es erübrigt noch einige Beispiele von **Metabiose** aufzuführen, jenes Verhältnisses verschiedener Organismen, bei denen der eine dem anderen den Nährboden erst vorbereitet, mundgerecht macht. Solche Metabiosen liegen bei mancher der technischen Mischgärungen vor: So bereitet bei der Bereitung des Sake der *Aspergillus Oryzae*, bei der Arrakbereitung der *Mucor Oryzae* der Hefe den Nährboden vor, indem er die Stärke vorher verzuckert. Ein schönes Beispiel von Metabiose bieten die Verhältnisse, wie sie sich im natürlichen Traubenmost beim offenen Stehen an der Luft einstellen. Zunächst siegt im Konkurrenzkampf der vorhandenen Organismen die Hefe und vergärt den Zucker zu Alkohol. Ist dieser Prozeß zu Ende gekommen, dann gewinnen die Essigbakterien die Herrschaft, welche den Alkohol zu Essigsäure oxydieren. Gleichzeitig wuchern auch Kahmpilze, welche den Alkohol vollständig verbrennen. Sobald der Alkoholgehalt niedrig genug geworden ist, treten Schimmelpilze auf, welche die Säure zerstören, und endlich ist auch für Fäulnisbakterien Raum geschaffen. In seinen Untersuchungen über die Assimilation des freien Luftstickstoffs durch freilebende Mikroorganismen schildert WINOGRADSKY (1) die Verhältnisse, wie sie in einer Glucoselösung, welche wohl die nötigen Mineralstoffe, aber keine Stickstoffverbindungen enthält, bei Impfung mit kleinen Mengen Erde an der Luft eintreten, in folgender Weise: Zunächst tritt, anfangs zögernd, später mehr und mehr an Stärke zunehmend, Buttersäuregärung auf, hervorgerufen durch *Clostridium Pasteurianum*, das sich mit wenigen Begleitern entwickelt. Wird die Buttersäure durch Calciumkarbonat neutralisiert, so geht die Gärung bis zum Verschwinden des Zuckers fort, und erst wenn sie aufhört, entwickeln sich auf dem jetzt infolge der Tätigkeit der Clostridien Stickstoffverbindungen enthaltenden Substrat die verschiedensten Schimmelpilze. Nach einiger Zeit stellen auch diese ihr Wachstum ein, und wenn die Kulturen im Licht stehen, so treten jetzt grüne Algen auf.

Auch Beispiele für Metabiose werden in den speziellen Teilen dieses Handbuches noch zu bringen sein, so z. B. das der Fäulnis des Fleisches und der Milch auf S. 99 und 100 des III. Bandes.

Literatur

zum Kapitel Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Organismen.

* **Barendrecht,** P., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 623. * **Bary,** A. **de,** (1) Die Erscheinungen der Symbiose, Straßburg 1879. — (2) Bot. Ztg., 1886, Bd. 34, S. 377. — (3) Vergl. Morphologie u. Biologie d. Pilze etc., Leipzig 1884. * **Behrens,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 514. — (2) Jahresber. d. Versuchsanst. Augustenberg für 1902, Karlsruhe 1903, S. 53. * **Bienstock,** (1) Ann. Pasteur, 1903, Bd. 17, S. 850. * **Bonska,** F. W., (1) Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1903. * **Bouilhac,** (1) Ann. agron., 1900, Bd. 24, S. 561; Kochs Jahresb., 1900, Bd. 11, S. 261. * **Brefeld,** O., (1) Bot. Unters. über Schimmelpilze, Bd. 1 u. 4, Leipzig 1872 u. 1881. * **Buchner,** H., (1) Münchener ärztl. Intelligenzbl., 1885, Nr. 50. * **Burri** und **Stutzer,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 16, S. 815. * **Carnot,** (1) Comptes rend. Soc. de Biol., 1898, S. 765. * **Chrzaszcz,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 431. * **Dietrich,**

(1) Beruht die bakterienvernichtende Wirkung bakterieller Stoffwechselprodukte auf proteolytischen Enzymen? Arb. pathol. Inst. Tübingen, 1900, Bd. 3. ***Duchesne,** (1) Contributions à l'étude de la concurrence vitale chez les microorganismes. Thèse. Lyon 1897. ***Duclaux,** (1) Traité de Microbiologie, Paris 1898 u. 1900, Bd. 1 u. 3. — (2) Desgl., Paris 1901, Bd. 4. ***Emmerich** und **Loew,** (1) Z. f. Hyg., 1899, Bd. 31, S. 1. ***Fischer,** A., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1882, Bd. 13, S. 50. — (2) Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl., Jena 1903. ***Fischer,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 268. ***Frank,** A. B., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1876, Bd. 2, S. 123. ***Garré,** C., (1) Korrespondenzbl. f. Schweiz. Aerzte, 1887, Bd. 17; Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 2, S. 312. ***Grisebach,** (1) Göttinger Nachrichten, 1872, S. 108. ***Hansen,** Em. Chr., (1) Comptes rendus de Carlsberg, 1881, Bd. 1, S. 59; Z. f. d. ges. Brauwesen, 1881, Bd. 4, S. 449. ***Henneberg,** W., (1) W. f. Brauerei, 1904, Bd. 21, S. 260. ***Kedrowsky,** (1) Z. f. Hyg., 1895, Bd. 20, S. 358. ***Kihlmann,** (1) Zur Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten; Act. soc. scient. Fennicae, Helsingfors 1883, Bd. 13; cit. n. de Bary (3). ***Kissling,** (1) Zur Biologie der Botrytis cinerea, Diss. Bern, Dresden 1889 (Sep. aus Hedwigia). ***Klimoff,** (1) Z. f. Hyg., 1901, Bd. 37. ***Koch,** A., (1) Ber. über die Verh. d. 29. D. Weinbaukongresses zu Colmar i. E., Mainz 1901, S. 22; Weinbau und Weinhandel, 1900, S. 395; Kochs Jahresb., 1900, Bd. 11, S. 141. ***Kossowitsch,** P., (1) Bot. Ztg., 1. Abt., 1894, Bd. 52, S. 97. ***Lafar,** Fr., (1) Landw. Jahrbücher, 1895, Bd. 24, S. 445. ***Lesage,** P., (1) Travaux scientifiques de l'Université de Rennes, 1902, Bd. 1, S. 171; Bot. Centralbl., 1904; Bd. 95, S. 371. ***Lindau,** G., (1) Hilfsbuch für das Sammeln der Ascomyceten, Berlin 1903. ***Matzuschita,** T., (1) Z. f. Hyg., 1902, Bd. 43, S. 267. ***Müller-Thurgau,** H., (1) Verhandl. des 11. und des 12. D. Weinbaukongresses zu Trier 1889 bez. Worms 1890, Mainz 1890 bez. 1891, S. 80 bez. 128. — (2) Fünfter Jahresbericht, Wädensweil 1894/95, S. 76; Kochs Jahresb., 1895, Bd. 6, S. 182. — (3) Siebenter Jahresbericht, Wädensweil 1896/97, S. 50; Weinbau und Weinhandel 1899, S. 389; Kochs Jahresb., 1899, Bd. 10, S. 148. ***Nägeli,** C. **von,** (1) Botanische Mitteilungen, Bd. 3, S. 205. — (2) Theorie der Gärung. Ein Beitrag zur Molekularphysiologie. München 1879. ***Nencki, M. von,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 11, S. 225. ***Nikitinsky,** (1) Jahrb. wiss. Bot., 1904, Bd. 40, S. 1. ***Oettingen,** V. **von,** (1) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 43, S. 463. ***Omeliansk**i, W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 11, S. 369. ***Pfeffer,** W., (1) Handbuch der Pflanzenphysiologie, Leipzig 1897, Bd. 1. ***Potts,** G., (1) Flora, 1902, Bd. 91, S. 281. ***Reinhardt,** M. O., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1891, Bd. 23, S. 479. ***Reinke,** J., (1) Morphol. Abh., Leipzig 1874, S. 95. ***Scholtz,** (1) Z. f. Hyg., 1898, Bd. 27, S. 132. ***Schröter,** J., (1) Die Pilze Schlesiens (Mucorineen), Breslau 1886. ***Thibaut,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 743. ***Ward,** Marshall, (1) Philos. Trans., 1892, S. 125; Proc. Roy. Soc., 1892, Bd. 50, Nr. 304/305; Kochs Jahresb., 1891, Bd. 2, S. 133, 1892, Bd. 3, S. 138. — (2) Trans. Inst. of Brewing, 1892, Bd. 5, S. 59. — (3) Annals of Botany, 1899, Bd. 13, S. 549. ***Wehmer,** (1) Beiträge z. Kenntn. einheimischer Pilze I, Hannover und Leipzig, 1893. ***Weigmann,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 150. ***Wildiers,** E., (1) La Cellule, 1901, Bd. 18, S. 313; Kochs Jahresb., 1901, Bd. 12, S. 133. ***Winogradsky,** S., (1) Arch. des sciences biol. de St. Pétersbourg, 1895, Bd. 3, S. 295. ***Zopf,** W., (1) Ueber einige niedere Algenpilze, Halle 1887.

Sechster Abschnitt.

Keimfreimachung und Reinzüchtung.

(*Manuskript-Einlauf: 19. Sept. 1906.*)

21. Kapitel.

Das Sterilisieren.

Von Dr. ROBERT BURRI,
Professor am Eidgen. Polytechnikum in Zürich.

§ 114. Allgemeine Vorbemerkungen.

Sterilisieren heißt, einen Gegenstand, z. B. ein Gefäß, eine Nährlösung usw., so behandeln, daß er lebende Keime nicht mehr enthält, daß er also steril ist.

5 Wie man mit dem Begriff des Sterilisierens gewöhnlich die Vorstellung einer auf Abtötung der Mikroorganismen gerichteten Behandlung verbindet, so ist man auch gewohnt, einen Gegenstand, welcher irgend einem Sterilisationsverfahren unterworfen war, als etwas mehr oder weniger Unveränderliches zu betrachten. Da nun zur Erreichung einer 10 vollkommenen Sterilisation nicht durchaus eine die Mikroorganismen schädigende Behandlung einzugreifen hat, so ist klar, daß in denjenigen Fällen, in welchen die Entkeimung auf eine andere Weise erfolgt, allfällig vorhandene Enzyme wirksam bleiben können. Ja sogar dann, wenn durch eine die Mikroorganismen direkt schädigende Einwirkung 15 die Befreiung eines Mediums von lebenden Keimen erfolgt, ist die Möglichkeit vorhanden, daß Enzyme der Zerstörung entgehen und trotz Abwesenheit lebender Keime zu einer nachträglichen Veränderung des betreffenden Mediums Anlaß geben. Mit dem Vorgang des Sterilisierens ist eben nur dann eine Unveränderlichmachung des zu sterilisierenden 20 Gegenstandes verbunden, wenn nach Anwendung des betreffenden Sterilisierungsmittels weder entwicklungsfähige Organismen noch auch wirksame Enzyme mehr vorhanden sind. Dieser Fall trifft überall zu, wo man mit keimvernichtenden Mitteln kräftiger Art zu Werke geht, denn diesen gegenüber (s. S. 273) erweisen sich auch die Enzyme nicht wider-

standsfähig, sie werden vernichtet. Wenn bei einem durch entsprechend wirksame Behandlung von lebensfähigen Keimen wie von Enzymen befreiten Medium von Unveränderlichkeit gesprochen wird, so geschieht dies selbstverständlich nur in Hinsicht auf Einflüsse biologischen Ursprungs. Einflüsse rein chemischer oder physikalischer Natur können 5 und werden sich unter Umständen immer noch geltend machen. In dieser Beziehung wäre an die von E. Duclaux (1) entdeckte Tatsache der Zerlegung von Weinsäure (s. S. 452) in Ameisensäure, Kohlensäure und Wasser durch das Sonnenlicht in Gegenwart von Luft zu erinnern, sowie an die Spaltung von Dextrose und Lactose bei Gegenwart ver- 10 dünnter Alkalien in Alkohol und Kohlensäure (s. Bd. IV, S. 377), ein Vorgang, der nach Duclaux (2) auch bei Abwesenheit von Sauerstoff durch bloße Wirkung des Sonnenlichtes erfolgen soll. Daß bei Ersatz der Alkalien durch Erdalkalien die Umwandlung des Zuckers bei der Bildung von Milchsäure stehen bleibt, wie Duclaux (2) angibt, hat 15 Zikes (1) nicht bestätigen können. Ueber Veränderungen der im Laboratorium gebrauchten Nährböden unter dem Einfluß des Lichtes vergleiche man S. 451 und 452; über den zersetzenden Einfluß des Sauerstoffs auf sterile Bierwürze ist auf S. 124 des Vierten Bandes eine Bemerkung zu finden. 20

Die Wege und Mittel, welche zur Erreichung der Keimfreiheit von Gegenständen irgendwelcher Art dienen, sind, wie bereits angedeutet, verschiedener Art. Wir können sie in drei Gruppen scheiden: 1. Trennung der Keime von dem zu sterilisierenden Medium auf mechanischem Wege durch Filtration. 2. Vernichtung der Keime durch physikalische Hilfs- 25 mittel, speziell durch Wärme und 3. Vernichtung der Keime auf chemischem Wege, nämlich durch Behandlung mit keimtötenden Substanzen. Selbstverständlich können diese Mittel, wo es sich als zweckmäßig empfehlen sollte, auch in Verbindung miteinander oder nacheinander auf ein und denselben Gegenstand angewendet werden. 30

Die Wahl des Sterilisierungsmittels ist nur selten belanglos, meist bedeutet sie für einen gegebenen Fall eine Frage von hervorragender Wichtigkeit. Zu ihrer richtigen Würdigung gelangt man nur, indem man alle Wirkungen, welche der Sterilisationsakt zur Folge haben kann, ins Auge faßt. Als Endzweck steht im Vordergrund die Befreiung eines 35 Gegenstandes fester, flüssiger oder gasförmiger Natur von allen ihm anhaftenden lebenden Mikroorganismen bezw. deren Dauerformen (s. S. 102 u. f.). Nun wären unter den zur Verfügung stehenden Mitteln gewöhnlich mehrere geeignet, den gewünschten Dienst zu leisten, jedoch wird eine starke Beschränkung durch den Umstand bedingt, daß neben der Frage 40 der sicheren Wirkung bezüglich der Entkeimung die Frage der Veränderlichkeit des der Behandlung zu unterwerfenden Gegenstandes steht. Wir wollen diesen Gegenstand wohl frei von lebensfähigen Keimen haben, wir wünschen aber andererseits, daß infolge der Sterilisation seine Eigenschaften in keiner Weise, wenigstens nicht unvorteilhaft, beeinflußt 45 werden. Hierin liegt der oberste Grundsatz jeder rationellen Sterilisierung ausgesprochen: Sicher wirkende Entkeimung bei schonender Behandlung des zu entkeimenden Gegenstandes. Nach dieser doppelten Anforderung wird man sich im einzelnen Fall bei der Wahl des Sterilisierungsverfahrens zu richten haben, wobei allerdings 50 nicht außer acht zu lassen ist, daß unter sonst gleichen Verhältnissen die Frage einer rationellen Sterilisierung in der Praxis aus ökonomischen

und auch aus technischen Gründen oft eine andere Lösung als im Laboratorium erfahren muß.

Neben der mehr oder weniger empfindlichen Beschaffenheit des Objektes spricht bei der Wahl des Sterilisierungsmittels auch die Art
5 der zu beseitigenden Keime eine Rolle. So gibt es Flüssigkeiten, die von Natur aus leicht, und solche, die von Natur aus schwierig zu sterilisieren sind. Zu den letzteren gehört z. B. die Milch, welche bei der üblichen Gewinnungsart in der Regel mit Bakteriensporen verunreinigt wird, denen nur mit den kräftigsten keimtötenden Mitteln bei-
10 zukommen ist. Nähere Angaben über die Entkeimung und Haltbarmachung der Milch im besonderen sind im 14., 15. und 16. Kapitel des Zweiten Bandes zu finden.

Eine fälschliche Anwendung der Ausdrücke „sterilisieren", „sterilisiert" usw. ist in der Praxis der Gärungsgewerbe und der
15 Konserven-Industrie, sowie im Handel mit entsprechenden Produkten vielfach im Gebrauch. Diese Tatsache ist wohl darauf zurückzuführen, daß man in Praktikerkreisen gewohnt ist, mit dem Begriff der Haltbarmachung denjenigen der Sterilisierung zu identifizieren, ohne sich darüber Rechenschaft zu geben, inwiefern eine bestimmte Behandlung, die z. B.
20 bei Anwendung auf eine zum menschlichen Genuß dienende Flüssigkeit ihr die erwünschte Haltbarkeit verleiht, auch zugleich den Anforderungen genügen kann, die man an ein zuverlässiges Entkeimungsverfahren zu stellen berechtigt ist. Nicht jeder durch ein sogen. Sterilisierungsverfahren in den Zustand einer gewissen (bedingten) Unveränderlichkeit
25 übergeführte Gegenstand ist im strengen Sinne des Wortes steril, d. h. frei von lebensfähigen Keimen. In vielen Fällen straft sich denn auch die Bezeichnung solcher angeblich sterilen Produkte selbst Lügen, indem bei zu langer oder ungeeigneter Aufbewahrung Zersetzungserscheinungen auftreten, welche aufs deutlichste die Anwesenheit und Tätigkeit leben-
30 der Mikroorganismen verraten. Aber auch dann, wenn sinnlich direkt wahrnehmbare Veränderungen in einem der Sterilisation unterworfenen Gegenstand fehlen, ist damit noch kein sicheres Kennzeichen der wirklichen Keimfreiheit gegeben; denn einerseits können auf Grund der Tätigkeit von Mikroorganismen Veränderungen vor sich gegangen sein,
35 die sich direkter Beobachtung entziehen, andererseits ist auch bei Ausbleiben jeglicher Veränderung immer noch mit der Möglichkeit zu rechnen, daß Dauerformen, namentlich solche gewisser Bakterien, vorhanden sind, welche zwar unter den im „sterilisierten" Medium herrschenden Bedingungen nicht auskeimen, wohl aber dann, wenn sie in Ver-
40 hältnisse gelangen, die für ihre Entwicklung günstiger sind.

Man hat also die scheinbare Sterilität oder Keimfreiheit eines Gegenstandes von der wirklichen Keimfreiheit desselben wohl zu unterscheiden. Welche von beiden in einem gegebenen Fall vorliegt, ist nicht immer leicht zu entscheiden. Die hierfür zu ergreifenden Maßnahmen,
45 mögen sie nun den Charakter einer für praktische Zwecke geeigneten Prüfungsmethode oder denjenigen eines wissenschaftlichen Versuchs haben, müssen darauf abzielen, den im zu prüfenden Medium etwa vorhandenen Keimen die für ihre Entwicklung günstigsten Bedingungen zu verschaffen. Dabei ist besondere Vorsorge dafür zu treffen, daß auch nur
50 vereinzelt vorhandene Keime dem Nachweis nicht entgehen.

So unerbittlich streng man an der Forderung absolut steriler Medien z. B. beim Arbeiten mit Reinkulturen im Laboratorium festhalten muß, so schwierig ist es vielfach in der Praxis der Gärungsgewerbe, dieser

Forderung zu genügen, ja, die Verhältnisse liegen hier meistens so, daß eine vollständige Entkeimung von Gefäßen, Geräten und Flüssigkeiten einmal aus technischen Gründen nicht durchführbar und sodann überhaupt nicht zweckmäßig wäre. Soweit hier Sterilisierungsverfahren zur Anwendung kommen, begnügt man sich mit der Unterdrückung jener 5 Mikroorganismen, welche die Haltbarkeit irgend eines Produktes in Frage stellen, ferner derjenigen, die störend in den normalen Verlauf der Gärungsprozesse eingreifen und dem endgültigen Produkt unerwünschte Eigenschaften verleihen könnten, oder die als Träger pathogener Fähigkeiten eine Beseitigung aus hygienischen Gründen als not- 10 wendig erscheinen lassen. Auf eine Unterdrückung sämtlicher Keime wird man in den meisten Fällen schon deshalb verzichten, weil die gute Wirkung, die in der Befreiung eines Gegenstandes von eventuell schädlichen Kleinwesen liegt, durch eine auf Beseitigung sämtlicher lebenden Keime abzielende Behandlung bezw. durch die damit verbundene Ver- 15 änderung seiner ursprünglichen Beschaffenheit nach anderer Richtung hin wieder aufgehoben würde. Diese Art der Sterilisation, die sich damit begnügt, nur diejenigen Keime zu unterdrücken, deren Entfernung für einen bestimmten Zweck als wünschenswert erscheinen muß, hat man als partielle Sterilisation bezeichnet. Um ein partielles Sterilisieren 20 handelt es sich tatsächlich in vielen Fällen, wo kurzweg von Sterilisieren gesprochen wird, so bei gewissen Sorten von sterilisierter Milch, von sterilisiertem Bier, sterilisiertem Gemüse u. dergl. m. Eine besondere Form der partiellen Sterilisierung liegt im sogen. Pasteurisieren vor, über welches der § 122 dieses Kapitels einige orientierende Angaben 25 enthält.

§ 115. Sterilisieren von Gasen durch Filtrieren.

Unter den im vorhergehenden Paragraphen angegebenen Wegen, welche zum Zwecke der Entkeimung eingeschlagen werden können, empfiehlt sich bei Gasen in erster Linie die mechanische Absonderung 30 der Keime durch Filtration. Diese erfolgt in der Weise, daß man das mit Keimen beladene Gas durch eine feinporige Substanz streichen läßt, wobei die Keime in der letzteren aufgehalten werden, während das Gas selbst frei von körperlichen Verunreinigungen das Filter verläßt. Auf diesem Prinzip beruht das seinerzeit gelegentlich der Versuche über 35 Urzeugung (s. S. 8) von SCHRÖDER und DUSCH angewendete Filter, das aus einer mit Baumwolle vollgestopften Glasröhre bestand und als Vorbild unserer heutigen Luftfilter betrachtet werden muß. In der Tat ist in mäßigem Grade zusammengepreßte Baumwolle vorzüglich geeignet, ein Labyrinth von feinen Gängen und Poren zu bilden, in welchem all- 40 fällig eintretende geformte Elemente irgendwelcher Art mit großer Sicherheit sich verfangen und an der Weiterbewegung verhindert werden. Diese Eigenschaft und der niedrige Preis der Baumwolle haben ihr denn auch eine allgemeine Verwendung zu dem erwähnten Zwecke f immer gesichert, so z. B. bei den Hefenreinzucht-Apparaten (s. Bd. S. 87—88).

Die Watte-Verschlüsse, mit welchen wir die Reagensgläser, Fla und Kolben versehen, in denen vorrätige Nährböden oder aber Zu von Organismen aufbewahrt werden, sind nichts anderes als I im kleinen. Diese treten unter anderem dann in Tätigkeit, v

Temperatur des Aufbewahrungsortes sinkt und sich infolgedessen die in den Gefäßen enthaltene Luft zusammenzieht. Mit der Zusammenziehung ist natürlich ein Einströmen von Luft in das Gefäß verbunden, und diese lagert beim Durchgang durch den Stopfen ihre Keime in dessen Gängen und Poren ab. In viel höherem Maße gelangt die filtrierende Eigenschaft des Wattestopfens zur Geltung, wenn wir den Inhalt eines mit solchem versehenen Gefäßes zum Kochen bringen, wie dies etwa beim Sterilisieren der in Reagensgläser abgefüllten Nährböden geschieht. Die nachher erfolgende Abkühlung bedingt ein ungemein intensiveres Durchströmen von Luft durch das Wattefilter, und es wird hier an seine Wirksamkeit auch eine größere Anforderung gestellt als in dem zuvor erwähnten Falle. Die Zuverlässigkeit des Watteverschlusses ist indessen doch nicht eine unbeschränkte. Sie ist bis zu einem gewissen Grade vom Feuchtigkeitsgehalte der Luft abhängig, in welcher das betreffende Gefäß aufbewahrt wird. Je trockener die Luft, um so sicherer ist der vom Watteverschluß gegen eine Infektion gewährte Schutz. In feuchter Luft wird man zwar kein Durchwandern von Spaltpilzen, die sich allenfalls auf der Außenseite des Stopfens niedergelassen haben, befürchten müssen, hingegen besitzen die Sporen der Schimmelpilze die verhängnisvolle Eigenschaft, bei genügender Feuchtigkeit auf der Watte auszukeimen und Mycelschläuche zwischen den Poren des Stopfens hindurch bis an dessen innere freie Fläche zu senden. Dort kommt es unter Umständen von neuem zur Bildung von Sporen, welche beim Abfallen von den Trägern eine Reinzucht oder einen sterilen Nährboden vollständig verderben können. Es sei hier übrigens darauf aufmerksam gemacht, daß man unter normalen Verhältnissen diesem Uebelstand fast gar nicht ausgesetzt ist, wenn man an Stelle der vielfach gebräuchlichen entfetteten Watte die billigere nicht entfettete, aber weniger hygroskopische Ware verwendet.

Bei Aufbewahrung von Nährböden und Zuchten in trockener Luft findet infolge lebhafter Verdunstung eine rasche Volumenabnahme statt, die man aus verschiedenen Gründen vermeiden möchte. Man sucht dies vielfach dadurch zu erreichen, daß man über den Gefäßrand eine den Wattestopfen überspannende vorher sterilisierte Gummikappe zieht, eine Maßnahme, die aber gerne die Verschimmelung der Kultur oder des Nährbodens im Gefolge hat, wenn man nicht gleichzeitig für Sterilisation des Wattestopfens sorgt, was durch Anbrennen des oberen Teiles oder durch Befeuchten mit Sublimatlösung geschehen kann. Will man diese Behandlung umgehen, so kann man, wenigstens bei Sterilisierung von Nährböden in Reagensgläsern oder geeigneten Flaschen, nach dem Vorschlage von R. Burri (1) die allerdings etwas teueren Gummiverschlüsse mit Schlitzventil (s. *Fig. 73*) verwenden, die schon vor der Sterilisierung auf der Gefäßmündung anzubringen sind. In diesem Falle bleibt das Volumen des Gefäßinhaltes beliebige Zeit unverändert, ein

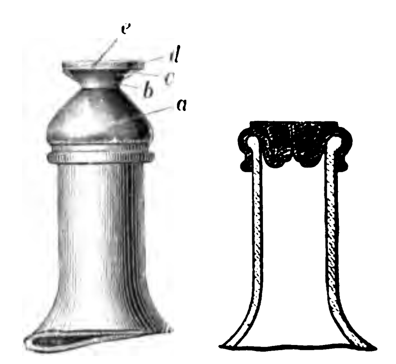


Fig. 73. Gummikappen-Verschluß nach A. Stutzer, links vor dem Sterilisieren, rechts (eingezogen) nach dem Sterilisieren und Abkühlen. *e* der enge Schlitz. — Nat. Größe.

Umstand, der bei selten gebrauchten Spezialnährböden von großem Werte ist. Denselben Vorteil erreicht Aderhold (1) dadurch, daß er eine Anzahl von mit Nährboden gefüllten Reagensgläsern zusammen anstatt frei im Dampftopf oder Autoklaven in einem Konservenglas sterilisiert, dessen durch eine Metallfeder lose angedrückter Deckel während der Erhitzung Luft und Wasserdampf entweichen läßt, nach erfolgter Abkühlung aber durch den Atmosphärendruck gegen einen auf den Hals des Gefäßes sitzenden Dichtungsring gepreßt wird und dieses hermetisch verschließt. In ganz beträchtlichem Maße wird die Verdunstung des Inhaltes bei jenen Gefäßen eingeschränkt, welche, wie das auf S. 114 des Vierten Bandes abgebildete Kölbchen nach Freudenreich-Hansen, mit der Außenluft nur durch einen engen, mit Watte verstopften Kanal verbunden sind. Weniger gegen Verdunstung als gegen eine Infektion des Gefäßinhaltes schützt eine doppelte Lage von Filterpapier, die man kappenartig über die Gefäßmündung zieht und durch einen Bindfaden zusammenhält. Noch besser soll nach H. Elion (1) eine Schutzkappe aus Glas wirken, die in Form einer kurzen Reagensröhre schon vor dem Sterilisieren des Nährbodens über die Gefäßmündung gestülpt wird und zunächst beim Sterilisieren den Wattestopfen vor herabtropfendem Wasser schützt und später bei der Aufbewahrung Schimmelsporen sicherer fernhält, als dies Papier zu tun vermag.

Was der Wattestopfen im kleinen leistet, das wird von den **Luftfiltern,** wie sie in den Brauereien zum Zweck der Zuführung keimfreier Luft in Gärkeller, Kühlräume usw. verwendet werden, im großen verlangt, denn hier handelt es sich darum, per Stunde gegen 1000 und noch mehr Kubikmeter Luft von anhaftenden Keimen zu befreien. Beim Möller'schen Filter z. B. wird dieser Zweck derart zu erreichen versucht, daß die Luft gezwungen wird, zahlreiche Lagen eines festen Baumwollgewebes zu durchstreichen, die zwecks Vergrößerung der filtrierenden Fläche taschenförmig zusammengenäht sind. Ueber ein von P. Lindner angegebenes Verfahren zur Prüfung solcher Filtersysteme auf ihre Leistungsfähigkeit vergl. man Bd. V, S. 162. Erwähnung verdient an dieser Stelle auch das Luftfilter von J. J. van Hest (1), das ebenfalls für die Anwendung in der Praxis bestimmt ist und dazu dienen soll, bei der Sterilisierung von Konserven verschiedener Art in Flaschen oder Blechbüchsen die nach erfolgter Erhitzung in das Gefäß zurückströmende Luft von Keimen zu befreien. Dieses Filter besteht aus einem mit dem Gefäßinnern in Verbindung stehenden fünfzehnmal auf- und abwärts gebogenen, beiderseits offenen Metallröhrchen, in dessen Krümmungen die mit der Außenluft eingetretenen Keime sicher abgelagert werden. Nach mitgeteilten Versuchsergebnissen des Erfinders ist die Leistungsfähigkeit dieses Filters eine vorzügliche, was B. A. van Ketel (1) bestätigen konnte. Der Vorläufer des van Hest'schen Filters ist das schon im Jahre 1862 von Pasteur benützte, nach Art eines Schwanenhalses gebogene Rohr (vergl. S. 10 und Bd. IV, S. 111), das (w
im feuchten Zustande) gestattete, die einströmende Luft
zu befreien und so den wichtigen Nachweis ermöglichte
änderte Luft bei der Einleitung in keimfreie N
keinerlei Zersetzungen hervorruft, wenn sie nur selbst fre
Keimen ist.

Bei seinen Studien über die in der Atmosphäre
nisierten Körperchen hat Pasteur die Luft durch
durchgesaugt. Er brachte diese dann in ein Ae

welches die Nitrocellulose auflöste, so daß nur noch die von letzterer festgehaltenen Körperchen übrig blieben, die dann auf Gestalt, Größe und Aufbau näher untersucht werden konnten. Dies war wohl die erste **mikrobiologische Luftanalyse.** Seither sind eine ganze Reihe ver-5schiedener Verfahren zur Bestimmung des Keimgehaltes der Luft vorgeschlagen worden. In einfacher und für viele Zwecke genügender Weise kann man Aufschluß über den Keimgehalt der Luft bekommen, indem man nach R. Koch's (1) Vorgang geeignete feste Nährböden, z. B. gewöhnliche oder Würzegelatine, in Petrischalen während einer 10bestimmten Zeit der zu untersuchenden Luft aussetzt und an Hand der sich entwickelnden Kolonien die Frage beantwortet: Wie viele und eventuell welche Mikroorganismen fallen in der Zeiteinheit auf die Flächeneinheit nieder? Ueber eine Anwendung dieses Verfahrens zur Luftuntersuchung in Brauereiräumen vergl. Bd. V, S. 162. Nicht so 15einfach gestaltet sich die Lösung der Frage: Welche Zahl und eventuell welche Arten von Organismen sind in der Volumeinheit der Luft eines gegebenen Raumes enthalten? Die hierfür vorgeschlagenen Verfahren beruhen im Prinzip darauf, daß ein abgemessenes Volum der zu untersuchenden Luft durch ein Medium gesaugt wird, an welches die Keime 20in einer Art abgegeben werden, die eine quantitative und qualitative Untersuchung ermöglicht. Als keimaufnehmende Unterlagen wurden früher Nährböden selbst verwendet, so bei der Methode von Hesse (1), welcher die Keime in einer Gelatinerollröhre sich absetzen läßt, so bei jener von Miquel (1), bei welcher 25die Keime beim Durchstreichen der Luft durch einen engen, auf sinnreiche Weise in fester Gelatine angebrachten Kanal zurückbehalten werden. Hueppe läßt die Luft durch verflüssigte Gelatine (s. *Fig. 74*) streichen und gießt nachher die mit Keimen beladene 30Gelatine zu Platten aus. Auf demselben Prinzip beruht der von Duclaux sehr empfohlene Luftuntersuchungsapparat von Straus und Würtz (1). Alle diese Methoden bilden eine Gruppe für sich gegenüber jenen, bei denen die Keime nicht direkt vom 35Nährsubstrat sondern von einem als Luftfilter dienenden porösen Material aufgenommen werden, das dann erst nachträglich mit dem Nährboden vermischt und auf Plattenkulturen verarbeitet wird. Derartige Verfahren sind von Frankland (1), Petri (1), Miquel (2) 40u. a. angegeben worden. Als Filtriermaterial hat Frankland Zuckerpulver, Petri Quarzsand und Miquel zerstoßene Natriumsulfatkristalle von 0,5 mm Korngröße verwendet. Ficker (1) hat in neuerer Zeit an Stelle des Quarzsandes den dank seiner Durch-45sichtigkeit beim Aufsuchen der Kolonien weniger störenden Glassand vorgeschlagen und auch die etwas umständlich zu handhabenden für die Abmessung des Luftvolums bisher gebrauchten Luftpumpen oder Aspiratoren durch eine spindelförmige Ballonpumpe (s. *Fig. 75*) von bekanntem Rauminhalt ersetzt. Die umfassendsten 50Untersuchungen über den Keimgehalt der Luft, insbesondere der Freiland-Luft, verdanken wir P. Miquel (3). Der Keimgehalt der Luft in Brauereien wurde zuerst von E. Chr. Hansen (1) näher geprüft; genauere Angaben hierüber sind auf S. 162 des Fünften Bandes zu finden. Ueber

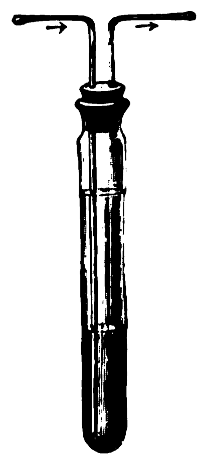


Fig. 74. Gelatine-Röhrchen für Luftuntersuchung nach Hueppe. — Ca. ein Drittel der nat. Größe.



Fig. 75. Luftuntersuchungs-Apparat nach FICKER, bestehend aus der Ballonpumpe (links) und dem mit Glassand beschickten Filterröhrchen (rechts).

Häufigkeit und Art der in Milchviehställen auftretenden Keime sind im § 7 des Zweiten Bandes einige Bemerkungen zu finden. In betreff des Nachweises pathogener Keime in der Luft muß auf die spezifisch hygienische Literatur verwiesen werden.

§ 116. Sterilisierung von Flüssigkeiten durch Filtrieren.

Wenn sich für die Entkeimung der Gase die Filtration unter den zu Gebote stehenden Mitteln ihrer einfachen Ausführung und zuverlässigen Leistung wegen von selbst empfiehlt, so liegen für Flüssigkeiten die Verhältnisse wesentlich anders. Soweit man sich hier der Filtration zur Entfernung der Keime bedient, geschieht es nicht, weil der angestrebte Zweck sich auf diesem Wege am leichtesten erreichen läßt, sondern weil andere Entkeimungsverfahren zu kostspielig sind, oder weil durch diese eine unerwünschte Veränderung der betreffenden Flüssigkeit hervorgerufen würde. Der erstere Fall liegt z. B. vor, wenn Fluß- oder Seewasser in großem Maßstabe einem Reinigungsprozeß unterworfen werden soll, der die Verwendung des betreffenden Wassers für den menschlichen Genuß ermöglicht. Hier ist die Filtration und vielleicht die Ozonisierung (vergl. S. 539) das einzige praktisch in Frage kommende Entkeimungsverfahren. Von den Formen der Ausführung ersterer und den dabei in Betracht kommenden biologischen Verhältnissen handelt das 13. Kapitel des Dritten Bandes. An dieser Stelle sei nur angedeutet, daß die Trinkwasserfiltration im großen nicht eine Sterilisierung im strengen Sinne des Wortes ist und daß zu Zeiten herrschender Epidemien das für den direkten Genuß bestimmte Wasser auf zuverlässigere Weise von allfälligen Krankheitskeimen befreit werden muß. Soweit man sich dabei nicht der Erhitzung bedienen will, kommen wiederum Filtrationseinrichtungen in Frage, die als Haushaltungswasserfilter bezeichnet werden können, und die als Vorbild für die Bakterienfilter gedient haben, welche wir im Laboratorium anwenden, wenn es sich um Trennung der Keime von ihren Stoffwechselprodukten oder ur Sterilisierung von Flüssigkeiten handelt, welche eine Behandlung r

chemischen Mitteln oder Wärme nicht ertragen. Diese letzteren Fälle sichern der Anwendung der Filtration ein weites Feld, denn keine Methode scheint in demselben Maße geeignet, die Trennung der Keime von einer Flüssigkeit unter Wahrung des ursprünglichen Charakters der letzteren zu bewirken.

Den diesbezüglichen Anforderungen sind allerdings die gewöhnlichen Papierfilter nicht gewachsen, weil die Keime der meisten Mikroorganismen von den hier verhältnismäßig großen Poren nicht zurückgehalten werden. Als zweckmäßig haben sich Schichten poröser Materialien mineralischer Natur erwiesen, so z. B. gebrannter Ton, der zuerst im Jahre 1871 von Tiegel (1) zur Wasserfiltration benützt worden ist, ferner Kieselgur, Gips und Asbest. Da der Durchtritt von Flüssigkeiten durch einigermaßen dicke Schichten solcher Materialien nur langsam erfolgt und infolge der Verstopfung der Poren überhaupt bald aufhören würde, so geschieht diese Art der Filtration immer unter Zuhilfenahme von Druck.

Die Bakterienfilter für Laboratoriumszwecke werden in zahlreichen Formen und Montierungen ausgeführt, wie ein Blick in die Preisverzeichnisse über bakteriologische Apparate zeigt. Der wesentlichste Bestandteil dieser Filter, also die filtrierende Masse, hat gewöhnlich die Form einer Kerze (franz.: bougie), welche eine zentrale, an einem Ende blind endigende Höhlung besitzt, die am anderen Ende in die Ausflußöffnung mündet. Die Chamberland-Kerzen, zuerst von Pasteur und Chamberland (1) benützt und beschrieben, bestehen aus gebrannter Porzellanerde (Biskuit), die von Nordtmeyer (1) empfohlenen und von Berkefeld hergestellten Filterkerzen hingegen aus gepreßter Infusorienerde. Die beiden Arten von Filterkörpern sind in verschiedenen Größen erhältlich und müssen in geeigneter Weise mit den Hilfsbestandteilen zu einem Ganzen verbunden werden, um als gebrauchsfertiges Bakterienfilter dienen zu können. Bei der gebräuchlichsten Anordnung des Chamberland-Filters (s. *Fig. 76*) wird



Fig. 76. Chamberland-Filter, mit **Druckluftpumpe** (rechts) montiert. — Ca. ein Zehntel der nat. Größe.

mittelst einer Handdruckpumpe die zu filtrierende Flüssigkeit aus dem die Kerze umgebenden Behälter durch diese hindurch gepreßt und das Filtrat unter Vermeidung von Verunreinigung durch Luftkeime in sterilisierte Kölbchen aufgefangen. An Stelle dieser nicht billigen Einrichtung kann man sich der folgenden bedienen. Eine CHAMBERLAND- oder BERKEFELD-Kerze wird mittelst eines Gummistopfens mit einem Glaszylinder verbunden (s. *Fig. 77*), so daß die Mündung der Kerze unten aus dem Gummistopfen herausragt. Dieser selbst oder die Mündung der Kerze wird nun dicht schließend auf einer Saugflasche befestigt. Sobald die Saugpumpe zu arbeiten beginnt, wird die Flüssigkeit aus dem Zylinder durch die Kerze hindurch in die Saugflasche getrieben. Als beliebte Vorrichtungen seien ferner erwähnt das PUKALL'sche Filter und das Filter von KITASATO. Bei dem letzteren wird die Kerze mittelst Gummischlauches an die untere Oeffnung eines birnförmigen Glasgefäßes angeschlossen und das Ganze auf einer Saugflasche montiert. Recht einfache Vorrichtungen zum Filtrieren unter Benützung von Filterkerzen finden sich auch bei DUCLAUX (3) angegeben. Wenn es sich um Filtrierung von geringen Flüssigkeitsmengen handelt, so kann man mit sehr kleinen Filterkörpern auskommen. Eine entsprechende Vorrichtung, welche erlaubt, auf einfachste Weise einige Kubikzentimeter Zuchtfiltrat zu sammeln, hat W. SILBERSCHMIDT (1) beschrieben. Auf einen von A. PAWLOWSKY und G. GLADIN (1) zusammengestellten, kontinuierlich wirkenden Apparat zum Filtrieren von Bakterienzuchten, der es gestattet, beliebige Mengen von Filtrat abzuzapfen, ohne Verunreinigung befürchten zu müssen, sei hier noch aufmerksam gemacht.



Fig. 77. Chamberland-Filter, einfache Ausführung zum Absaugen. — Ungefähr ein Drittel der nat. Größe.

Was nun die Leistungsfähigkeit der genannten Typen von Bakterienfiltern betrifft, so ist diese nichts weniger als eine unbeschränkte. Vorab ist zu bemerken, daß Fabrikate aus ein und derselben Quelle recht verschieden in dem Sinne sein können, daß langsam arbeitende und schnell arbeitende Exemplare derselben Marke nebeneinander vorkommen. Belege dafür sind in den auf S. 368 des Dritten Bandes citierten Arbeiten wie auch in Mitteilungen von E. PFUHL (1) enthalten. Mitunter können verborgene Risse und Sprünge die Filter überhaupt unbrauchbar machen. Man nimmt daher vor der Benützung einer neuen Kerze mit derselben eine Prüfung vor, indem man den porösen Teil unter Wasser hält, das offene Ende mit einem Gebläse in Verbindung setzt und mittelst des letzteren Luft in das Filter preßt. Der kleinste Riß wird sich dabei durch im Wasser aufsteigende Luftblasen verraten. Ferner ist beim Arbeiten mit Bakterienfiltern in Berücksichtigung zu ziehen, daß einerseits die ersten Portionen nicht immer keimfrei sind und daß andererseits wiederum eine Verunreinigung des Filtrats mit Keimen stattfinden kann, wenn das Filter längere Zeit in Funktion gewesen ist. In letzterem Fall tritt nämlich die Erscheinung des Durchwachsens der Keime ein, welches darauf beruht, daß

sich im Innern des mit Nährstoffen gewöhnlich reichlich durchtränkten Filterkörpers eine Vermehrung und Ausbreitung gewisser Bakterien einstellt, die nach Art einer wachsenden Kolonie immer mehr an Ausdehnung gewinnt, zuletzt die innere Fläche erreicht und so das Er-5scheinen von Keimen im Filtrate bedingt. Schon um diesem Uebelstande vorzubeugen und auch weil die Leistung des Filters mit zunehmender Verstopfung der Poren sich erheblich verringert, wird man für rechtzeitige Reinigung und Erneuerung sorgen. Die Sterilisation erfolgt nach gründlicher mechanischer Reinigung, an welche sich zweck-10mäßig ein Durchpressen von Wasser anschließt, in kochendem Wasser oder im Autoklaven, eventuell, nach vorhergegangenem Trocknen, im Heißluft-Sterilisator.

Die Leistungsfähigkeit der beiden gebräuchlichsten Filtersysteme, Chamberland und Berkefeld, hat je nach den in den Vordergrund 15gestellten Gesichtspunkten eine verschiedene Beurteilung erfahren. Im allgemeinen haben die Berkefeld-Filter gegenüber den Chamberland-Filtern den Vorzug, daß sie eine schnellere Filtration ermöglichen. Auch läßt sich die Oberfläche der ersteren mittelst eines Luffa-Wischers leicht reinigen, was bei dem harten Biskuit nur schwer möglich ist. 20Die Berkefeld-Filter hingegen sind leicht zerbrechlich und werden nach Dachnjewski (1) schneller von Keimen durchwachsen als die Biskuitfilter.

Endlich ist nicht zu vergessen, daß allen diesen Filtern die Eigenschaft zukommt, nicht nur die körperlichen Elemente der zu filtrieren-25den Flüssigkeit sondern auch gewisse in Lösung oder Quellung befindliche Bestandteile der letzteren zurückzuhalten. Diese Tatsache wurde im Jahre 1888 durch Flügge und Sirotinin (1) festgestellt und später durch Arloing (1) etwas genauer untersucht. Letzterer hat z. B. den Saft, welcher von vergorenen Zuckerrübenschnitzeln abgelaufen war, 30einmal durch ein gewöhnliches Papierfilter, das andere Mal durch eine Chamberland-Kerze F bei 3 Atmosphären Druck filtriert und gefunden, daß die Kerze zurückbehalten hatte: 19,89 Proz. der Trockensubstanz, 20,48 Proz. der durch Alkohol fällbaren Substanzen und 33,80 Proz. der freien Säuren. C. J. Martin (1) ist gelegentlich seiner Studien über 35den Hefenpreßsaft (s. Bd. IV, S. 354) zu einer ähnlichen Feststellung gelangt. Zu den Substanzen, welche von Mineralfiltern der erwähnten Art energisch zurückbehalten werden, gehören auch gewisse Enzyme (vergl. S. 274). So mußte E. von Freudenreich (1), um mittelst Filtration durch Chamberland-Kerzen eine einigermaßen kräftige keim-40freie Lablösung zu bekommen, von einer stark konzentrierten Lösung ausgehen, weil deren Wirksamkeit bei der Filtration zum größten Teil verloren ging. Miquel hat auf den zersetzenden Einfluß des Luftsauerstoffes gelegentlich seiner Versuche über Ureaseabscheidung aus Zuchten von Harnstoffbakterien (s. Bd. III, S. 82) aufmerksam gemacht. Man 45wird also solche Filtrationen unter Umständen in einer Wasserstoffatmosphäre vornehmen müssen. Von demselben Forscher (4) ist ein Filtrationsverfahren für leicht zersetzliche Flüssigkeiten mit Eiskühlung angegeben worden.

An Stelle der porösen festen Filter können unter Umständen auch 50Schichten von Gips, Kieselgur, Holzzellulose u. dergl. m. zur Entkeimung von Flüssigkeiten verwendet werden. Bei dieser Art von Filtration, die in der gärungstechnischen Praxis sehr verbreitet ist, rechnet man zwar in der Regel weniger auf eine Abscheidung der Mikro-

organismen, als auf eine Befreiung der betreffenden Flüssigkeiten von anderen trübenden Elementen. In betreff der Bierfilter vergleiche man S. 193 u. f. des Fünften Bandes. Angaben über Milchfilter findet man auf S. 249 u. f. des Zweiten Bandes.

Mit dem als Homogenisieren bezeichneten Milchbehandlungs- 5 verfahren (s. Bd. II, S. 286) ist offenbar eine teilweise Entkeimung verbunden, die in gewissem Sinne als Filtration aufgefaßt werden kann. Bei diesem Verfahren wird die Milch unter sehr hohem Druck zwischen federnden harten Flächen hindurchgepreßt, und die Folge davon ist, daß nunmehr die größten Fettkügelchen kaum mehr als 0,3 μ Durch- 10 messer haben. Es erhebt sich die Frage, ob z. B. die viel weniger dehnbaren Bakteriensporen, deren Dicke selten unter 1 μ beträgt, überhaupt imstande sind, ähnlich wie die Fettkügelchen sich unter dem Einfluß des Druckes zwischen jenen Flächen hindurchzuzwängen. Nach E. Hofstädter's (1) Versuchen über das Eindringen von Bakterien in 15 feinste Kapillaren muß dieses als mindestens unwahrscheinlich bezeichnet werden. Vielleicht läßt sich das Homogenisierungsverfahren dahin ausbauen, daß auf seiner Grundlage ein neues Entkeimungsprinzip in den Dienst der Mikrobiologie gestellt werden kann, das speziell für Flüssigkeiten sehr zu begrüßen wäre, die sowohl durch starke Erwärmung als 20 auch durch Filtration in ihrer chemischen Zusammensetzung eine wesentliche Veränderung erleiden.

Bis zu einem gewissen Grade ist allerdings die Zentrifuge auch imstande, körperliche Teilchen aus Flüssigkeiten abzuscheiden und so für die Filtration, wo diese unzulänglich ist, Ersatz zu leisten. Leider 25 bleibt wegen des geringen Unterschiedes im spezifischen Gewicht zwischen Nährflüssigkeit und Keimen die Abscheidung der letzteren meist eine unvollständige, doch ist das Prinzip der weiteren Verfolgung würdig, und die Laboratoriumszentrifuge (s. Bd. II, S. 28, Bd. III, S. 417, Bd. V, S. 184) wird voraussichtlich dem Mykologen und Gärungsphy- 30 siologen ebenso unentbehrlich werden, wie sie es dem Pathologen jetzt schon ist.

§ 117. Sterilisierung durch trockene Wärme.

Sucht man, zunächst ohne Rücksicht auf andere Momente, nach Mitteln, welche im Kampfe gegen die Dauerformen unerwünschter 35 Gärungsorganismen schnelle und sichere Wirkung versprechen, so muß sich die Erhitzung auf genügend hohe Temperaturen in erster Linie empfehlen. In der Tat wird von dieser Maßnahme, welche das Plasma, den Träger alles Lebens, rasch zum Absterben bringt, umfassender Gebrauch gemacht. Wie im nächsten Paragraphen noch besonders zu be- 40 tonen sein wird, ist dabei im einzelnen Fall für die Höhe der anzuwendenden Temperatur der Umstand ausschlaggebend, ob die zu tötenden Dauerformen in trockenem oder in feuchtem Zustande der Erhitzung unterworfen werden. Hier handelt es sich vorläufig nur um die Besprechung jener Anwendungsformen des Sterilisierens durch Wärme, bei 45 welchen die Mitwirkung von Wasser oder Wasserdampf ausgeschlossen ist. Orientierende Angaben über das Widerstandsvermögen von Gärungsorganismen, im besonderen ihrer Sporen, gegenüber trockener Wärme sind an verschiedenen Stellen dieses Handbuches zu finden, so in betreff der Bakterien auf S. 447, der Eumyceten im allgemeinen auf S. 201 50

des vorliegenden Bandes und der Sproßpilze (Hefen) im besonderen auf S. 294 und 314 des Vierten und S. 66—67 und 113—114 des Fünften Bandes.

Die einfachste und zugleich gründlichste Sterilisierung durch Hitze erreichen wir durch Verbrennen bezw. Versengen der Kleinwesen und ihrer Dauerformen beim Abflammen der betreffenden Gegenstände. Die Impfnadeln, Messerklingen, Glasstäbe, kleinen Pipetten, kurz alles, was einer solchen Behandlung zugänglich ist, bestreichen wir unmittelbar vor Gebrauch direkt mit der Flamme des Bunsenbrenners oder einer Spirituslampe, oder wir übergießen den Gegenstand mit Spiritus und setzen letzteren in Brand. Auf diesem Wege hat Hiltner (1) lebende Samen auf schonende Weise von oberflächlich anhaftenden Keimen befreit. Ein Anbrennen des Wattestopfens vor seiner Entfernung aus einem, ein Nährsubstrat enthaltenden Reagensglas oder sonstigen Gefäß ist unbedingt zu empfehlen. Denn so gut ein solcher Stopfen im allgemeinen das Innere des Gefäßes vor Zutritt fremder Keime bewahrt, so ist er doch, wenn nicht besondere Schutzvorrichtungen in Form von Glaskappen (s. S. 519) oder dergl. vorhanden sind, in seinen oberflächlichen Teilen als eigentlicher Keimfänger anzusehen. Beim Herausziehen eines solchen Stopfens aus der Mündung des Gefäßes entsteht nun in diesem immer eine augenblickliche kleine Luftverdünnung, welcher unmittelbar ein entsprechender Rückstrom folgt. Daß aber die Gefahr einer Infektion unter sonst gleichen Verhältnissen in einer mit Keimen beladenen Luft, wie es diejenige in der Umgebung eines vorher erschütterten oder gar berührten, nicht angebrannten, staubigen Wattestopfens sein kann, größer ist, als in reiner Luft, liegt auf der Hand.

Für viele Fälle ist eine Sterilisierung durch direkte Anwendung des Feuers weniger zweckmäßig, sei es, weil z. B. Glasgeräte bei dieser Behandlungsweise leicht springen, oder weil das Sterilisieren einer großen Anzahl gleichartiger Gegenstände in der Flamme zu umständlich wäre. In solchen Fällen leistet der Heißluftsterilisator, auch Heißluft-Desinfektor genannt, gute Dienste. Abbildungen von diesem Gerät findet man in den Katalogen der Händler. Man wird aber auch mit einem einfachen Trockenschranke, wie er in chemischen Laboratorien für Temperaturen über 100° C gebräuchlich ist, den Zweck erreichen, namentlich dann, wenn jener mit einer Isolierschicht von Asbest oder dergl. versehen ist. Die Temperatur, die man im Heißluftsterilisator zur Anwendung bringt, soll nicht über 160° betragen, und zwar genügt es, diese während 1—1½ Stunden einwirken zu lassen. Als sicheres Zeichen der eingetretenen Entkeimung kann die auf einem Ansengen beruhende schwache Gelbfärbung der Watte dienen, welche als Verschluß der zu sterilisierenden Gefäße mit denselben erhitzt worden ist. Kulturplatten, Kulturschalen, Meßkölbchen und ähnliche Gegenstände werden immer auf diese Weise sterilisiert, ebenso die zum Abfüllen der Nährböden bestimmten leeren Reagensgläser. Der Einwand, daß eine Sterilisierung der letzteren keinen Zweck habe, weil nach dem Abfüllen des Nährbodens dieser so wie so noch sterilisiert werden müsse, ist nur dann stichhaltig, wenn es sich um Nährböden handelt, die unbedenklich auf Temperaturen erhitzt werden dürfen, welche für Abtötung der widerstandfähigsten Bakteriensporen notwendig sind. Wo man aber Ursache hat, die Sterilisation der Nährböden in schonender Weise vorzunehmen, könnte eine allfällige, von der mechanischen Reinigung der Gläser her-

stammende Verunreinigung mit solchen Sporen Veranlassung zu unliebsamen Erfahrungen geben.

Selbstverständlich müssen alle Gegenstände in vollkommen trockenem Zustande in den Heißluftsterilisator kommen, da sonst bei der hohen Temperatur allfällig mit heißen Glasflächen zusammentreffendes Kondensationswasser ein Springen der Gefäße zur Folge haben könnte. Damit ist auch die Beschränkung angedeutet, welcher die Anwendung dieser Sterilisationsmethode unterliegen muß. Flüssigkeiten fallen für Heißluftsterilisation überhaupt nicht in Betracht, sondern nur feste, verhältnismäßig schwer veränderliche Gegenstände.

Unter Umständen kann die Entkeimung der Luft selbst infolge der Erhitzung neben der Entkeimung fester Gegenstände durch Berührung mit der heißen Luft als Sonderzweck in Betracht gezogen werden. Dies ist der Fall beim Arbeiten mit dem sogen. Pasteur-Kolben (s. Fig. 54 in Bd. IV, S. 111). Gießt man aus dessen Seitenrohr — sei es zum Zwecke der Probenahme oder aber, um mit dessen Inhalt einen zweiten, ähnlichen Kolben zu beimpfen — Flüssigkeit aus, so hält man die Oeffnung oder auch die erste Biegung des Schwanenhals-Rohres in die Flamme und beabsichtigt mit dieser Erhitzung in erster Linie eine Befreiung der nachströmenden Luft von darin enthaltenen Keimen. Eine solche Reinigung der Luft im Innern der Gefäße ist natürlich bei der gewöhnlichen Sterilisierung im Heißluftschrank inbegriffen, wenn man auch hier in erster Linie die Vernichtung der den Gefäßwänden anhaftenden Keime im Auge hat.

§ 118. Sterilisierung durch feuchte Wärme.

Schon R. Koch und Wolffhügel (1) haben darauf aufmerksam gemacht, daß heiße Luft, wenn sie nicht mindestens die Temperatur von 150° C hat, ein minderwertiges Entkeimungsmittel ist, und daß Wasserdampf im Vergleich zu Luft von gleicher Temperatur viel kräftiger wirkt. Diese Tatsache gilt nicht nur für die Abtötung von Bakterien und ihren Dauerformen, sondern, wie sich später herausgestellt hat, auch bezüglich der Wärmewirkung auf pulverförmige Enzympräparate, auf lebende Samen usw. Je trockener solche Objekte sind, um so besser ertragen sie hohe Wärmegrade, je feuchter, um so schneller werden sie durch dieselbe Temperatur Schaden leiden. Es wird also ganz allgemein die schädigende Wirkung hoher Temperaturen gegenüber Plasma und Enzymen durch die Anwesenheit von Wasser gesteigert, eine Tatsache, die der Sterilisierung solcher Gegenstände zugute kommen muß, welche sich für Behandlung mit heißer Luft nicht eignen, also vorab für Flüssigkeiten aller Art. Die Erhitzung der letzteren kann dabei sowohl direkt in einem Gefäß auf freiem Feuer als auch indirekt durch Aufstellen des Gefäßes in einer Atmosphäre von heißem Wasserdampf erfolgen. Bei der Entkeimung fester Gegenstände mittelst feuchter Wärme findet in der Regel ein Bespülen, bezw. Durchströmen mit heißem Dampf Anwendung, unter Umständen aber auch das Halten der Objekte in kochendem Wasser.

Wenn nach dem Gesagten das Sterilisieren in heißem
Sterilisieren in heißer Luft im allgemeinen bedeutend überl
bietet doch jede der beiden Methoden in gewissen Fällen ih
Vorteile, und es müssen Bestrebungen, die letzteren zu ve

Interesse aufgenommen werden. Aus diesem Grunde sei hier der Versuche SCHUMBURG's (1) gedacht, welcher gefunden hat, daß Luft von 100° C, die 55—65 Proz. relativer Feuchtigkeit enthält, also feuchte heiße Luft, auf pathogene, nicht Sporen bildende Bakterien sicher 5 vernichtend wirkt und daher eventuell für die Desinfektion von Gegenständen, die bei der reinen Dampfdesinfektion leiden, verwendet werden könnte. Dagegen haben die Arbeiten von E. VON ESMARCH (1) und M. RUBNER (1) ergeben, daß überhitzter Dampf in seiner keimtötenden Kraft sich nicht anders verhält als heiße Luft von der gleichen 10 Temperatur.

Die gebräuchlichste Anwendungsart feuchter Wärme ist wohl die Sterilisation im strömenden Dampf, wie sie zuerst von R. KOCH, GAFFKY und LOEFFLER (1) angegeben worden ist. Der hierzu nötige Apparat, unter dem Namen Koch'scher Dampftopf bekannt, besteht 15 im wesentlichen aus einem hohen, zylindrischen, mit Filz oder einem anderen schlechten Wärmeleiter umkleideten Blechtopf, der zwei Böden hat, von denen der obere siebartig durchlöchert und bestimmt ist, die zu sterilisierenden Gefäße zu tragen und dem Dampfe auszusetzen, welcher von dem darunter befindlichen kochenden Wasser entwickelt 20 wird. Die zu sterilisierenden Gegenstände sind allseits vom Dampf umspült und nehmen so allmählich die Temperatur des siedenden Wassers an. Selbstverständliche Bedingung ist dabei, daß eine Heizquelle in Tätigkeit ist, die den Wasservorrat in so kräftigem Kochen erhält, daß beständig ein überschüssiger Teil des entwickelten Dampfes unter dem 25 lose schließenden Deckel hindurch entweicht. Der Wasserzufluß geschieht zweckmäßigerweise ununterbrochen nach Art der Wasserbäder mit gleichbleibendem Flüssigkeitsstand.

Nach dem Gesagten besteht also die Leistung des Dampftopfes in seiner Eigenschaft als Sterilisationsapparat in erster Linie in einer Ent- 30 keimung von Flüssigkeiten durch Erhitzen dieser auf die Siedetemperatur des Wassers, in zweiter Linie in einer Befreiung der nicht von der Flüssigkeit bespülten Innenwand und des Luftraumes der Gefäße von allfällig anhaftenden Keimen durch heißen Dampf von derselben Temperatur. Zur Beantwortung der Frage, auf welche Weise eine schnellere Abtötung 35 der Keime erfolgt, müssen die Versuche von EIJKMAN (1) herangezogen werden, welche ergeben haben, daß kochendes Wasser nicht so viel leistet als Dampf von derselben Temperatur, und daß die Unterschiede besonders bei Anwendung verminderten Drucks, speziell bei Temperaturen von 34—87° C, hervortreten. EIJKMAN erklärt diese Tatsache durch die 40 Annahme, daß die dem Dampf ausgesetzten Bakterien eine höhere Temperatur erreichen, als der Dampf selbst besitzt, weil sie infolge der Wasseraufnahme sich gewissermaßen mit einer Hülle umgeben, die wie eine konzentrierte Salzlösung wirkt. Daß die Verhältnisse bezüglich der Erwärmung von Objekten, die dem strömenden Dampf ausgesetzt sind, 45 nicht ganz einfach liegen, haben die Erfahrungen gezeigt, welche bei der Dampfdesinfektion von Produkten der Textilindustrie gemacht worden sind. VOGEL (1) und namentlich RUBNER (2) haben darauf aufmerksam gemacht, daß bei der Temperatur des dem Sterilisationsapparate entströmenden Dampfes von 100° gewisse Partien solcher Objekte sowohl 50 bedeutend geringere als auch erheblich höhere Temperaturen aufweisen können. Die letztere Erscheinung ist nach RUBNER darauf zurückzuführen, daß die Hygroskopizität der Gewebe, bezw. die bei der Sterilisierung erfolgende Wasserbindung an sich eine ergiebige Wärmequelle

bedeutet, woraus z. B. erklärlich wird, daß bei gewissen Versuchen einzelne Partien von Geweben bei der Sterilisation im nicht gespannten Dampf eine Wärme erreichten, die um 15° über dem Siedepunkt des Wassers lag. Zu ähnlichen Ergebnissen wie Eijkman war J. Schut d. J. (1) gelangt, welcher außerdem auf die schädigende Wirksamkeit hingewiesen hat, welche das Kochen an und für sich, besonders unter vermindertem Druck, auf Bakterien ausübt. Die Tatsache, daß auf diesem Wege Bakterien sogar innerhalb ihrer physiologischen Temperaturgrenzen abgetötet werden können, wird sich ohne Zweifel nicht nur auf dem Gebiet der hygienischen sondern auch auf demjenigen der gärungsgewerblichen Sterilisationstechnik als von Bedeutung erweisen. Was die schädigende Wirkung des Kochens der Flüssigkeiten auf die in ihnen enthaltenen Bakterien betrifft, so müssen mit diesem offenbar Störungen besonderer Art verbunden sein, die vielleicht, wie Schut vermutet, auf das Auftreten von Dampfblasen im Plasmakörper zurückzuführen sind.

Wenn nun, um auf die Verhältnisse im Dampftopf zurückzukommen, bei jeder Temperatur heißer Dampf kochendem Wasser derselben Temperatur an Desinfektionskraft überlegen oder mindestens gleichwertig ist, so muß der Unterschied in der Wirkung von heißem Dampf gegenüber nicht kochendem Wasser derselben Temperatur noch größer sein, da das im Kochen liegende, keimschädigende Moment in Wegfall kommt. Es herrschen also z. B. bei einem der Sterilisation im Dampftopf ausgesetzten Kolben mit Flüssigkeit für alle Keime, die nicht in der Flüssigkeit oder in Kondensationstropfen liegen, bezüglich des Abtötungserfolges mindestens so günstige Bedingungen, als für die in der Flüssigkeit eingeschlossenen Keime. Wenn vereinzelte Beobachtungen und Tatsachen für das Gegenteil sprechen, so dürfte dieser Widerspruch nur ein scheinbarer sein und sich durch besonders schwierige Entfernung der Luft, welche für die dem Dampf ausgesetzten Keime die Rolle einer schützenden Hülle spielt, erklären lassen. Die Prüfungen von Mikroorganismen und deren Dauerformen auf ihren Widerstand gegenüber feuchter Hitze werden aus obigen Gründen zweckmäßig unter Verteilung des Materials in Wasser und nicht mittelst Aufklebens desselben an Seidenfäden, Deckgläschen und ähnlichen Unterlagen vorgenommen, welche ihrerseits dem Dampfstrom ausgesetzt werden. Nur im ersteren Falle wird man einigermaßen gleichartige Ergebnisse und eventuell bei der praktischen Sterilisation direkt verwendbare Minimalwerte erwarten dürfen.

Die Wirkung der Sterilisation im Dampftopf ist gegenüber allen Keimen, welche Dauerformen nicht bilden, eine rasche und zuverlässige. Die meisten von ihnen dürften eine feuchte Wärme von etwa 80° ab kaum eine Minute ertragen. Die Sporen sind im allgemeinen bedeutend widerstandsfähiger, doch bildet Wasser oder Wasserdampf von annähernd 100° für die Dauerformen der Eumyceten und Sproßpilze immerhin ein augenblicklich wirkendes Tötungsmittel; vergl. Bd. I, S. 201, und Bd. V, S. 113 und 114. Aber auch die typischen Sporen vieler Bakterienarten werden im strömenden Dampf in kurzer Zeit vernichtet, diejenigen von gewissen Buttersäurebakterien nach Beijerinck (1) in wenigen Minuten; andere Arten dieser Gruppe ertragen dieselben Verhältnisse bis zu $^3/_4$ Stunden. Durch Anwendung einer Erhitzungsdauer von einer Stunde auf gewisse Flüssigkeiten erreicht man daher in vielen Fällen eine absolute Entkeimung. Anders liegen die Verhältnisse, wenn Sporen von gewissen Pektinvergärern oder von sogen. Kartoffelbazillen abzutöten sind. Die ersteren ertragen nach meiner eigenen Erfahrung die Behand-

lung im Dampftopf über $1^{1}/_{2}$ Stunden und die widerstandsfähigsten Kartoffelbazillen nach GLOBIG (1) über 6, nach TH. SAMES (1) bis 10 und nach CHRISTEN (1) sogar über 16 Stunden. Solche Sporen von hoher Widerstandsfähigkeit finden sich regelmäßig in der Erde (s. Bd. III, 5 S. 442) und in allen Materialien, die Gelegenheit hatten, direkt oder indirekt mit Erde verunreinigt zu werden. Die Sterilisierung solcher Objekte würde bei Verwendung des Dampftopfes zu viel Zeit und Brennmaterial beanspruchen, und man erreicht in diesem Falle das Ziel schneller und sicherer mit Hilfe gespannten Dampfes.

10 Nachdem schon PASTEUR (1) die Erfahrung gemacht hatte, daß Milch, welche durch mehrstündiges Kochen nicht steril gemacht werden konnte, bei Erhitzung auf 110° C in verhältnismäßig kurzer Zeit keine lebenden Keime mehr enthielt, haben Versuche späterer Forscher, so jene von GLOBIG (1), von MIQUEL und LATTRAYE (1) und von anderen, darge- 15 tan, daß oberhalb 100° C mit steigender Temperatur die Desinfektionskraft von Flüssigkeiten, bezw. von gesättigtem Wasserdampf, rasch zunimmt. Zur Erzeugung der gewünschten Dampfwärme kann man sich der in chemischen Laboratorien zur Stärkemehlbestimmung gebrauchten Autoklaven bedienen. Diese sind, weil für mehrere Atmosphären Ueber- 20 druck bestimmt, gewöhnlich in einem Grade massiv gebaut, wie er für bakteriologische Zwecke nicht nötig ist. Ein Druck von einer Atmosphäre genügt hier für alle Zwecke, und meistens wird man besser nur 0,5 at anwenden und dafür die Dauer der Einwirkung entsprechend verlängern. Für kleinere Flüssigkeitsmengen (bis zu 50 ccm) genügt zur 25 Sterilisierung eine ca. 20 Minuten dauerde Erhitzung bei 1 at Ueberdruck, entsprechend einer Dampftemperatur von ca. 120° C. Bei Anwendung von nur 0,5 at Ueberdruck, entsprechend einer Dampftemperatur von ca. 112° C, muß die Zeit der Einwirkung auf 30 Minuten ausgedehnt werden. Sehr angenehm ist beim Arbeiten mit dem Autoklaven der seit 30 einigen Jahren im Handel befindliche, zuerst von LAUTENSCHLÄGER in Berlin hergestellte Manometer-Regulator, der es gestattet, innerhalb des zulässigen Druckes einen beliebigen Teil zur Wirkung gelangen zu lassen. Die nähere Einrichtung dieses Hilfsapparates ist in den Katalogen jeder größeren Firma für bakteriologische Bedarfsgegenstände 35 beschrieben. Bezüglich der Handhabung des Autoklaven ist besonders daran zu erinnern, daß 1. immer ein genügender Wasservorrat im Apparate sei, 2. der Dampf vor dem Schließen des Hahnes einige Minuten kräftig ausströmen soll, damit man der vollständigen Austreibung der Luft sicher sein kann, und 3. nach erfolgter Sterilisation eine plötzliche 40 Druckverminderung dadurch zu vermeiden ist, daß man den Dampfhahn nicht öffnet, bevor der Druck im Apparat dem Atmosphärendruck gleich geworden ist.

Ganz besonderes Gewicht ist aus naheliegenden Gründen auf die vollständige Austreibung der Luft zu legen. Bei der Sterilisierung von 45 Gegenständen, die mit Luft erfüllte, schwer zugängliche Hohlräume in sich schließen, kann man sich einer Behandlung durch gespannten Dampf bedienen, wobei eine Evakuierung eingeschaltet wird. F. BORDAS (1) hat dieses Verfahren für die Sterilisierung von Flaschenkorken (vergl. Bd. IV, S. 274) empfohlen. In diesem Zusammenhang darf auch auf die günstigen 50 Erfahrungen hingewiesen werden, welche M. RUBNER (3) bezüglich der schnellen Durchwärmung poröser Objekte durch Wasserdämpfe unter Zuhilfenahme des Vakuums hat machen können.

Ein Apparat, der sowohl als Dampftopf wie als Autoklav benützt

werden kann, ist von ABBA (1) angegeben worden. Es handelt sich um einen Sterilisator, der einen größeren Wasservorrat als die gewöhnlichen Autoklaven faßt, und auf dem nach Bedarf mittels Flügelschrauben ein dichtschließender Deckel befestigt wird. Der Apparat gestattet nur die Anwendung von 0,5 at Ueberdruck, was aber für Sterilisationszwecke 5 genügend ist.

In der Praxis der Gärungsgewerbe wird die keimtötende Wirkung des Dampfes vielfach verwendet. Man dämpft z. B. in den Brauereien (s. Bd. V, S. 179) die Rohre der Würzeleitung, die metallenen Hefenreinzuchtgefäße und auch die großen MÖLLER'schen Luftfilter aus. In 10 den Molkereien, wo Dampfkraft zur Verfügung steht, werden die Milchtransportgefäße regelmäßig gedämpft, und auch in den primitiv eingerichteten Alpenkäsereien macht man unbewußt von der keimvernichtenden Wirkung der feuchten Wärme Gebrauch, indem man die hölzernen Milchgeräte in den im Käsekessel zurückgebliebenen heißen, eventuell bis zum 15 Kochen erhitzen Molken (Schotten) reinigt.

§ 119. Diskontinuierliches Sterilisieren.

Will man Flüssigkeiten, die mit einiger Wahrscheinlichkeit Dauerzellen sehr widerstandsfähiger Art enthalten, durch das Mittel der Erhitzung keimfrei machen, so ist, wie wir gesehen haben, ein mehrstündiger 20 Aufenthalt im strömenden Dampf oder eine mindestens halbstündige Behandlung mit gespanntem Dampf von 0,5 at Ueberdruck notwendig, um den Zweck zu erreichen. Für viele Flüssigkeiten bedeutet aber das eine wie das andere einen Eingriff, der eine unerwünschte Veränderung der physikalischen und chemischen Beschaffenheit im Gefolge haben kann. 25 So würde z. B. die gewöhnliche Nährgelatine, die bei richtiger Zubereitung bei 25° C noch fest bleiben soll, durch die erwähnte starke Erhitzung eine solche Erniedrigung des Schmelzpunktes erfahren, daß ihre Verwendung als fester Nährboden schon bei Temperaturen von ungefähr 20° in Frage gestellt würde. Hätten wir die Gewißheit, daß der 30 zu sterilisierende Nährboden mit sehr widerstandsfähigen Dauerzellen nicht behaftet ist, dann könnte von obigen scharfen Entkeimungsmitteln von vornherein Umgang genommen und die Sterilisierung in mehr schonender Weise bewerkstelligt werden. Dieser schonenden Behandlung auch sporenhaltige Flüssigkeiten zugänglich zu machen, verfolgt 35 das von TYNDALL angegebene Prinzip des diskontinuierlichen oder fraktionierten Sterilisierens. Nach demselben suchen wir die betreffenden Flüssigkeiten dadurch in den Zustand leichter Sterilisierbarkeit zu versetzen, daß wir für die Umwandlung der Sporen in vegetative Formen sorgen. Mit den letzteren haben wir dann leichtes Spiel; 40 denn diese sterben schon bei Temperaturen unter 100°, um so gewisser dann im strömenden Dampfe ab. Von dieser Erwägung ausgehend, werden wir also die zu sterilisierende Probe vorerst kurze Zeit der Temperatur des strömenden Wasserdampfes aussetzen und dadurch eine Abtötung aller vegetativen Formen, wie auch der Sporen von geringer 45 Resistenz erzielen. Nun bewahren wir die fragliche Probe einige Zeit unter Verhältnissen auf, die einer Auskeimung der am Leben gebliebenen Sporen günstig sind. An die Stelle der letzteren treten nun vegetative Zellen, und eine Wiederholung der kurze Zeit dauernden Erhitzung auf 100° wird diese mit Sicherheit vernichten. Allfälligen Sporen, die 50

zwischen der ersten und zweiten Erhitzung nicht ausgekeimt sind, würde dadurch beizukommen sein, daß man die zu sterilisierende Probe nach einer weiteren Aufbewahrungszeit zum dritten Male einer mäßigen Erhitzung unterwirft und nötigenfalls das Verfahren noch einige Male wiederholt.

Praktische Anwendung hat dieses Prinzip der Sterilisierung speziell bei der Herstellung der mit Gelatine zusammengesetzten Nährböden gefunden. Allgemein wird in den Lehrbüchern der Mikrobiologie die Vorschrift gegeben, daß Gelatinenährböden an drei aufeinander folgenden Tagen durch je 20 Minuten langen Aufenthalt im strömenden Dampf zu sterilisieren seien. Man könnte daraus entnehmen, daß die Richtigkeit und Zuverlässigkeit des fraglichen Sterilisierungsprinzipes hinlänglich erwiesen sei. Das trifft jedoch nicht ganz zu.

Schon im Jahre 1895 haben Miquel und Lattraye (1) darauf aufmerksam gemacht, daß die Methode des diskontinuierlichen Sterilisierens auf einer nicht ganz richtigen Voraussetzung beruht, indem es Sporen gebe, die auch unter günstigen Verhältnissen ganz unregelmäßig auskeimen, in dem Sinne, daß ein Teil allerdings schon im Laufe eines Tages, ein kleinerer Teil aber später und vereinzelte Exemplare sogar erst nach einer längeren Reihe von Tagen sich zu vegetativen Formen entwickeln. Durch dieses eigentümliche Verhalten der Sporen sei der erwähnten Sterilisierungsmethode der sichere Boden entzogen. Als Beweis für die Richtigkeit ihrer Ansicht führen die genannten Forscher Sterilisierungsversuche an, die u. a. mit Nährgelatine ausgeführt worden sind, welche einen Zusatz von Sporen sehr widerstandsfähiger Art erhalten hatte. Es war nicht möglich, durch ein drei Tage hintereinander vorgenommenes Erhitzen auf 100° während je einer Stunde diesen Nährboden zu sterilisieren, während bei viermaliger Anwendung der Erhitzung der Erfolg ein besserer war. Dieselbe Wirkung wurde aber auch bei einer einmaligen Erhitzung auf 100° während 4 Stunden erzielt. Selbstverständlich war die betreffende Gelatine durch diese Behandlung völlig unbrauchbar geworden. Miquel und Lattraye gelangen auf Grund ihrer Versuche zu der Ansicht, daß die diskontinuierliche Sterilisierung ihren Zweck nicht erreiche und daß diejenigen Fälle, in denen das Verfahren sogar bei Anwendung von Temperaturen unter 100° C gute Resultate ergeben hat, sich einfach so erklären lassen, daß die betreffenden Nährböden überhaupt keine zählebigen Sporen enthalten haben. Sie empfehlen daher, gelatinehaltige Nährböden entweder durch Filtrieren oder im Autoklaven zu sterilisieren. Im letzteren Fall soll eine viertelstündige Einwirkung gespannten Dampfes von 110° C genügen und die Eigenschaften des Nährbodens nicht wesentlich beeinflussen. Soweit nun durch diese Wärmeeinwirkung ein Gelatinenährboden wirklich sterilisiert werden kann, dürfte aber der erwähnte, von Miquel und Lattraye erhobene Einwand ebenfalls angebracht sein. Denn alle Erfahrungen sprechen dagegen, daß durch viertelstündige Einwirkung der Temperatur von 110° C, die nicht ganz einer halben Atmosphäre Ueberdruck entspricht, eine sichere Sterilisierung von Nährböden, die mit Sporen von Kartoffelbazillen verunreinigt sind, zustande kommen kann. Wo dieses Ziel anscheinend erreicht wird, haben eben keine Sporen von hoher Widerstandsfähigkeit vorgelegen, und dies ist bei der gewöhnlichen Fleischwasser-Peptongelatine in der Regel der Fall. Wenn die französischen Forscher ihre Nährböden mit Erfolg im Autoklaven bei kurz dauernder Anwendung von relativ

niedrig gespanntem Dampf sterilisieren, so beruht dies auf derselben Tatsache, welche es ermöglicht, durch eine 20 Minuten andauernde Behandlung im strömenden Dampf an drei aufeinander folgenden Tagen die gewöhnliche Gelatine zu sterilisieren. Die Wirkung des Prinzipes des diskontinuierlichen Sterilisierens kommt bei diesem Erfolg erst in zweiter Linie in Frage, vielmehr aber die Tatsache, daß eine unter Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln bereitete Nährgelatine sehr arm an widerstandsfähigen Sporen ist, und daß daher unter 100 Gläschen sehr oft schon nach der ersten Erhitzung höchstens vereinzelte nicht sterile getroffen werden.

Ganz anders liegen die Verhältnisse, wenn man genötigt ist, für die Herstellung des Nährbodens Stoffe zu benutzen, die von Natur aus mit gewisser Regelmäßigkeit durch schwer zu vernichtende Sporen verunreinigt sind. Hierher gehört die Milch, die bei der üblichen Gewinnungsweise reichlich Gelegenheit hat, solche Dauerformen aufzunehmen. Die Molkengelatine, ein beim Studium milchwirtschaftlich wichtiger Bakterienarten an Stelle der Fleischwassergelatine benutzter Nährboden, würde sich nur in Ausnahmefällen in gleicher Weise wie die letztere sterilisieren lassen, und auch die von MIQUEL und LATTRAYE vorgeschlagene Behandlung im Autoklaven, die ja immerhin eine stärkere Wärmewirkung bedeutet, würde oft genug versagen. Um nun den fertigen Nährboden in einen Zustand leichter Sterilisierbarkeit überzuführen, werden die Molken vor der Mischung mit Gelatine für sich im Autoklaven sterilisiert und zwar mindestens durch eine halbe Stunde bei 0,5 at Ueberdruck. Auf diese Weise bekommt man ein Endprodukt von erwünschtem Schmelzpunkt, das sich leicht in üblicher Weise an drei aufeinander folgenden Tagen im Dampftopf sterilisieren läßt, da man es jetzt nur noch mit Sporen zu tun hat, welche nicht aus der Milch, sondern aus der Gelatine, der Luft, den benutzten Gefäßen usw. stammen können. Im allgemeinen ist deren Anzahl aber nicht von Belang, und es dürften gerade Versuche mit solchen sporenarmen Gemischen geeignet sein, die Vorteile des diskontinuierlichen Sterilisierens hervortreten zu lassen, während die Heranziehung von absichtlich mit Sporen angereicherten Nährböden ein ungünstiges Ergebnis voraussehen läßt. Unter der Voraussetzung, daß von den Sporen eines Nährgemisches immer nur ein gewisser Prozentsatz bezüglich der Auskeimungszeit nicht der allgemeinen Gesetzmäßigkeit folgt, ist es verständlich, daß bei zu reichlichem Sporengehalt die fraktionierte Sterilisierung versagen *muß*, daß aber mit dem Sinken der absoluten Sporenzahl bis unterhalb einer bestimmten Grenze der Erfolg dieses Verfahrens nicht ausbleiben *kann*.

Wenn auch dem diskontinuierlichen Sterilisieren in Wirklichkeit nicht die wichtige Rolle zukommen mag, auf die man aus der allgemein verbreiteten Anwendung dieser Methode bei Herstellung der gewöhnlichsten Nährböden schließen könnte, so wäre es doch verkehrt, sie auf Grund der nachweislichen Unsicherheit, welche ihr anhaftet, gänzlich fallen zu lassen. Gerade die Tatsache, daß das Prinzip, dessen Berechtigung man nicht bestreiten kann, unter Umständen im Stiche läßt, fordert dazu auf, die Bedingungen ausfindig zu machen, unter welchen dieses mit größtem Vorteil verwendet werden kann. Es w sich dabei namentlich um die Frage handeln, welche Zeit von der er Erhitzung des Mediums bis zur anderen abgewartet werden soll, welche Temperatur für seine Aufbewahrung zu wählen ist. Ob bei

üblichen 24-stündigen Aufbewahrung bei Zimmertemperatur den in Betracht fallenden Verhältnissen gebührend Rechnung getragen wird, ist mindestens fraglich. Die allermeisten sporenbildenden Bakterien, sicherlich aber diejenigen unter ihnen, welche Sporen von besonders wider-5 standsfähiger Art erzeugen, bevorzugen relativ hohe Temperaturen. Eine Aufbewahrung der zu sterilisierenden Medien bei 30° oder 37° C anstatt bei Zimmertemperatur in den Zwischenzeiten würde voraussichtlich der Sporenauskeimung günstig sein. Andrerseits wäre im Zusammenhang damit die Zwischenzeit zu kürzen und vielleicht auf 12 10 Stunden zu bemessen, denn bei dem energischen Verlauf aller Lebensprozesse bei der genannten Temperatur wäre zu befürchten, daß eine Verschlechterung des Nährbodens durch Anhäufung der von den vegetativen Formen ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte stattfinden könnte, und daß ferner innerhalb 24 Stunden ein junges Stäbchen imstande 15 wäre, von neuem in eine Dauerzelle überzugehen. Als Anlauf in der angedeuteten Richtung können die Versuche von A. Wróblewski (1) über das Verhalten des *Bac. mesentericus vulgatus* bei höherer Temperatur betrachtet werden, ebenso die Versuche von R. Weil (1), welcher mit Sporen des Milzbrandbazillus gearbeitet hat.

20 Bei weiterem Ausbau der Methode des diskontinuierlichen Sterilisierens würde einmal die Möglichkeit näher gerückt, verschiedene Nährböden in einer noch mehr schonenden Weise, als dies bisher geschehen ist, sterilisieren, und damit deren ursprüngliche physikalische und chemische Eigenschaften erhalten zu können. Sodann würde für kleinere, 25 bescheiden ausgestattete Laboratorien das Fehlen eines Autoklaven nicht so sehr ins Gewicht fallen, wenn z. B. beim Sterilisieren von Milch das diskontinuierliche Verfahren, auf rationelle Grundlage gestellt, unter Verwendung des gewöhnlichen Dampftopfes auf einfache Weise zum Ziele führen würde.

30 Unter keinen Umständen darf bei Anwendung des diskontinuierlichen Sterilisierens außer acht gelassen werden, daß dieses niemals eine absolute Sicherheit für die Keimfreiheit eines Nährbodens bieten kann. Diese Sicherheit liegt nur da vor, wo Wärmewirkungen zur Anwendung gelangten, die erfahrungsgemäß genügen, um die widerstands-35 fähigsten Dauerformen abzutöten. (Streng genommen ist sie auch hier nur eine bedingte, insofern wir nicht wissen können, ob das Auftreten bisher nicht bekannter Sporenarten uns nötigen könnte, die sonst als genügend erachtete Wärmewirkung durch einen höheren, neuen Grenzwert zu ersetzen.) In allen anderen Fällen ist Mißtrauen in die Keim-40 freiheit eines sterilisierten Nährbodens um so mehr am Platze, je schonender dessen Behandlung war. Man darf daher nicht unterlassen, solche Nährböden erst dann in Gebrauch zu nehmen, nachdem sie sich bei mehrtägiger Aufbewahrung unter Verhältnissen, die einer Entwickelung von allfällig vorhandenen Keimen günstig sind, als steril er-45 wiesen haben.

§ 120. Mineralische Antiseptika.

Der Ausdruck Antiseptikum ist hier im weiteren Sinne gebraucht und bedeutet ganz allgemein einen die Kleinwesen schädigenden Stoff, also ein Pilzgift. Man hat früher wohl die Antiseptika als Gärung und 50 Fäulnis hindernde Mittel von den Desinfektionsmitteln geschieden, als

welche die zur Vernichtung krankmachender Bakterien geeigneten Stoffe bezeichnet wurden. Eine solche Trennung hat heute keine innere Berechtigung mehr, da wir wissen, daß es Vertreter aus allen Hauptgruppen der Kleinwesen gibt, welche zugleich als Erreger von Krankheit und von Gärung wirken können, und da andererseits nicht einzusehen ist, warum eine und dieselbe Substanz bloß im Kampfe gegen ausgesprochene Krankheitserreger und nicht auch zur Unterdrückung von Gärungs- und Fäulnispilzen angewendet werden soll. Nach einer mehr neuzeitlichen, von den Medizinern übernommenen Ausdrucksweise spricht man auch von dem antiseptischen Wert eines Pilzgiftes einerseits und von dessen desinfizierenden Wert andererseits, wobei diese Ausdrücke sich ungefähr mit Tötungswert, bezw. Hemmungswert decken. Näheres über die Bedeutung dieser Unterscheidung wie überhaupt über die Grundlagen der Prüfung, Anwendung und Wirkungsweise der Pilzgifte ist im 19. Kapitel des vorliegenden Bandes enthalten. Ueber die Prüfung von Desinfektionsmitteln für den Bedarf der Brauereien vergl. man § 45 des Fünften Bandes.

Auf ihren keimvernichtenden Wert sind beinahe unzählige Stoffe geprüft worden, meistens mit Rücksicht auf ihre Verwendung in der Medizin und Hygiene. Beständig werden in den Fachschriften dieser Gebiete Mitteilungen über neue Antiseptika gemacht, und auch die technisch-mykologische Literatur hat eine rasch wachsende Zahl von entsprechenden Angaben aufzuweisen. Unter den für medizinisch-hygienische Zwecke gebrauchten Antisepticis, über deren wichtigste Vertreter seinerzeit R. Koch (2) grundlegende Versuche angestellt hat, kommen für die Besprechung in diesem Handbuche nur diejenigen in Betracht, die auch den technischen Mykologen und den Nahrungsmittelchemiker interessieren.

Als eines der kräftigsten keimvernichtenden Mittel galt seit jeher das **Sublimat** oder Quecksilberchlorid. In den Gärungsgewerben kann es wegen seiner giftigen Eigenschaften zwar nicht angewendet werden, doch macht man im Laboratorium von ihm häufigen Gebrauch und desinfiziert z. B. Schalen und Glasglocken, die zum Bedecken der Kulturen gebraucht werden, oder man durchtränkt mit der Lösung dieses Salzes die Filtrierpapierlagen, welche in den großen Glasdosen als Feuchtigkeitsreservoir dienen und die Kulturen vor dem Austrocknen schützen sollen. Auch im Laboratorium des Fabrikschemikers sollte die Sublimatlösung stets neben dem Verbandzeug bereit stehen, um bei Unglücksfällen zum ersten Auswaschen allfälliger Wunden dienen zu können. Man benutzt für diesen wie für obige Zwecke eine Lösung von 1 g Sublimat ($HgCl_2$) in einem Liter destillierten Wassers. Wie die meisten anderen Quecksilbersalze, geht auch das Sublimat mit den Eiweißkörpern (z. B. des Blutes) unlösliche Verbindungen ein und wirkt dann nicht mehr auf die Bakterien. Man sucht dem dadurch vorzubeugen, daß man der 0.1 Proz. starken Lösung pro Liter 5 g Kochsalz zufügt, welches mit dem Quecksilberchlorid zu einem im Wasser löslichen Doppelsalz zusammentritt. Doch ist auch in diesem Fall die schädigende Wirkung des Sublimats gegenüber Mikroorganismen immer noch sehr von der Natur des Mediums abhängig, in welchem sich die abzutötenden Keime befinden.

Viel schwächer als Quecksilberchlorid wirkt Zinkchlorid (vergl. die Tabelle in Bd. II, S. 95), das, wie übrigens auch das Sublimat, zur Imprägnierung des Holzes verwendet wird, bezüglich welcher der § 87 des Dritten Bandes genauere Angaben enthält.

Die **schweflige Säure** (SO_2) ist wohl dasjenige Desinfiziens, welches der Mensch zuerst angewendet hat. Der Gebrauch, die Weinfässer zu schwefeln, beruht jedenfalls auf uralter Ueberlieferung. Die Schwefelung wird so vorgenommen, daß man einen sogen. Schwefelfaden (Schwefel-5schnitte) entzündet und in das Faß einführt, in welchem er durch den Spund am Hinabfallen gehindert wird. Dieser Schwefelfaden ist ein etwa fingerbreiter Streifen von Leinwand, der in geschmolzenen Schwefel getaucht worden ist. Die keimtötende Kraft der schwefligen Säure in Gasform ist von G. WOLFFHÜGEL (1) näher geprüft worden. G. LINOSSIER (1) 10hat die Beziehungen zwischen dem Gehalt einer wässerigen Lösung des Gases und der Dauer der Einwirkung, welche nötig ist, um Abtötung bestimmter Keime zu erreichen, zahlenmäßig festzustellen versucht. Dessen Angaben beziehen sich indessen nur auf Sproß- und Schimmelpilze, nicht auch auf Bakterien. Für die letzteren haben die Unter-15suchungen von KITASATO (1), MIQUEL (5) und anderen dargetan, daß sie, wenigstens im sporenfreien Zustande, gegenüber dem in Lösung befindlichen Gase sehr empfindlich sind. Wiederum mit dem Einfluß der schwefligen Säure auf Sproßpilze befassen sich neuere Untersuchungen von JOH. FERNBACHER (1). Es gelangten verschiedene Rassen zur Ver-20wendung, und zwar wurden diese in Saccharoselösung sowohl bei Keller- als bei höherer Temperatur der Wirkung reiner schwefliger Säure ausgesetzt. Zur Unterdrückung der Gärung waren erforderlich: bei Hefe *Saaz* 6,8 mg, bei Hefe *Frohberg* 7,5 mg und bei Hefe *Logos* 9.2 mg pro Liter Flüssigkeit. Auch bezüglich der zur Abtötung notwendigen Mengen 25von dieser Säure verhielten sich die verschiedenen Hefenrassen ziemlich verschieden. Für die Weinhefen hatte MÜLLER-THURGAU (1) schon früher ähnliches konstatiert, und zwar erwiesen sich gerade die im gärenden Most nicht gern gesehenen Formen, wie *Sacch. apiculatus* (s. Bd. IV, S. 322) und Rassen des *Sacch. Pastorianus* weniger widerstandsfähig als 30die eigentlichen Weinhefen. Aus diesem Grunde empfiehlt der genannte Forscher, in gewissen Fällen, in denen eine reine Gärung nur schwierig herbeizuführen ist, durch mäßiges „Einbrennen“ der Gärgefäße eine Abtötung oder Schwächung verschiedener nachteilig wirkender Organismen vorzunehmen. Eventuell würde es sich empfehlen, in der Praxis Rein-35hefen zu verwenden, die an schweflige Säure gewöhnt sind (vergl. Bd. IV, S. 333). Daß eine solche Gewöhnung ohne besondere Schwierigkeiten zu erzielen ist, geht u. a. aus einer Arbeit von ROTHENBACH (1) hervor, der die schweflige Säure neben anderen Säuren auf ihre Eignung zur Erzielung einer bakterienfreien Kunsthefenführung für Brennereizwecke 40(s. Bd. V, S. 304) prüfte. Im Brauereigewerbe ist das Ausschwefeln von Fässern und Gärbottichen ebenfalls gebräuchlich; auch der Hopfen wird geschwefelt und unter Umständen sogar das Malz. WINDISCH (1), der hierüber Angaben macht, ist der Ansicht, daß ein relativ hoher Gehalt der Würze an schwefliger Säure auf den Geschmack des Bieres einen nach-45teiligen Einfluß ausüben könne, vielleicht infolge einer während der Gärung erfolgenden vermehrten Schwefelwasserstoffbildung. Ueber Schwefelwasserstoffbildung im Wein vergl. man das 18. Kapitel des Fünften Bandes. In den Gärungsgewerben wird, abgesehen von der Schwefelung, das Schwefeldioxyd in ausgedehntem Maße in gebundener Form, 50nämlich als doppeltschwefligsaurer Kalk $Ca(HSO_3)_2$ gebraucht. Damit reinigt man z. B. die Gärbottiche der Brauereien (s. Bd. V, S. 182). H. WILL empfiehlt (1) auf Grund seiner diesbezüglichen, an Bierhefen und Kahmhefen angestellten Versuche, eine wässerige Lösung dieses

Salzes zu verwenden, welche ungefähr 10 g Schwefeldioxyd im Liter enthält. Da im käuflichen Handelsprodukt 70—75 g pro Liter vorhanden sind, wird man also einen Gewichtsteil dieser Flüssigkeit mit der sechsfachen Menge Wasser verdünnen. Nach BRAND (1) soll indessen der Gehalt der käuflichen Präparate mitunter viel zu niedrig sein. Nur erwähnt sei hier ein anderes Salz der schwefligen Säure, das schwefligsaure Natron, das als wichtiger oder alleiniger Bestandteil des sogen. Präservesalzes bei der Konservierung von Fleisch da eine große Rolle spielt, wo nicht gesetzliche Vorschriften die Verwendung solcher und ähnlicher Zusätze verbieten. Ausführliche Angaben betreffend die entwicklungshemmende Kraft dieses Salzes finden sich bei LANGE (1).

Ueber die Brauchbarkeit des Liquide Pictet, also des Gemisches von je einem Moleküle Kohlensäure und schwefliger Säure, haben J. DE RECHTER und LEGROS (1) berichtet.

Die **Kohlensäure** kann als Antiseptikum kaum betrachtet werden. Die Untersuchungen von C. FRAENKEL (1), welche durch C. STEINMETZ (1) bestätigt worden sind, haben gezeigt, daß diese Säure gewissen Bakterien überhaupt nichts anzuhaben vermag, so daß diese sogar in einer Atmosphäre von reiner Kohlensäure ganz gut gedeihen. Andere Arten werden unter denselben Verhältnissen zwar in der Entwicklung gehindert, aber kaum abgetötet. Man findet die wichtigste Literatur hierüber bei P. FRANKLAND und WARD (1) zusammengestellt. Es muß aus dem Gesagten schon klar sein, daß kohlensaure Wässer nicht, wie von Laien oft angenommen wird und wie LEONE seinerzeit behauptet hatte, zum vornherein keimfrei sein müssen. Die Untersuchungen von P. SIEDLER (1) haben denn auch das Gegenteil erwiesen. NOURRY und MICHEL (1) haben mitgeteilt, daß eine unter Druck mit Kohlensäure gesättigte Milch bei kühler Aufbewahrung gegenüber gewöhnlicher Milch eine nicht unwesentlich größere Haltbarkeit besaß. In betreff des Einflusses der Kohlensäure auf die Hefen sei auf S. 459 des Ersten Bandes und auf S. 134 des Vierten Bandes verwiesen.

Das **Chlor** wird nicht als Gas, sondern meist in der Form von Chlorkalk verwendet. Dieser ist von H. WILL (2) angelegentlich zur Desinfizierung der halb oder ganz aus Wolle hergestellten Trubsäcke der Brauereien empfohlen worden. Diese Trubsäcke sind gewöhnlich mit Bakterien und wilden Hefen stark infiziert. Die Keime können nun durch sorgfältiges Bürsten zum Teil entfernt und durch Einwirkenlassen einer Chlorkalklösung mit einem Gehalte von ein Proz. aktiven Chlors abgetötet werden. Guter Chlorkalk des Handels liefert 30—35 Proz. seines Gewichtes an Chlor. Man wird also 3—3,5 kg in 1 hl Wasser bringen, das Gemisch wiederholt aufrühren, dann sich absetzen lassen und endlich die klare Flüssigkeit von dem Bodensatze abziehen und verwenden. Eine hervorragend starke Desinfektionskraft scheint dem Chlor übrigens nicht eigen zu sein. Nach R. KOCH tötet zwar 0,2-proz. Chlorwasser die Sporen des Milzbrandbazillus binnen einer Stunde ab. Dagegen hat CLAYTON (1) gefunden, daß diese Sporen durch eine ein Proz. disponibles Chlor enthaltende Natriumhypochlorit-Lösung nach 24-stündiger Behandlung nur eine Schwächung erlitten hatten. Ausführliche, namentlich von medizinisch-hygienischem Interesse geleitete Versuche über die Bakterienfeindlichkeit des Chlores und Bromes haben B. FISCHER und B. PROSKAUER (1) angestellt. In den Gärungsgewerben werden chlorhaltige Antiseptika in dieser oder jener F[illegible] ausgedehnte Anwendung finden, und zwar wegen de[illegible]

den Geruchs der Dämpfe von freiem Chlor, die sich aus den betreffenden Präparaten entwickeln. Ueber das aus letztgenanntem Salz hergestellte Antiformin vergleiche man Bd. V, S. 182. In neuerer Zeit ist die früher von TRAUBE (1) angeregte Frage der Beschaffung unschädlichen 5 Trinkwassers mit Hilfe der Chlordesinfektion wieder in Fluß gekommen. BASSENGE (1) sowie LODE (1) haben die TRAUBE'schen Angaben nachgeprüft und haben bestätigt, daß es möglich ist, auf verhältnismäßig einfache Weise ein stark verunreinigtes oder absichtlich mit pathogenen Bakterien versetztes Wasser durch Behandlung mit Chlor von schädlichen 10 Keimen zu befreien. Nach BASSENGE sind zu diesem Zwecke pro Liter Wasser 0,0978 g aktives Chlor nötig, wenn die Vernichtung der vegetativen Formen in 10 Minuten erfolgen soll, hingegen nur 0,0108 g, wenn die Einwirkung zwei Stunden dauert. Die Anwendung des Chlors geschah in Form von Chlorkalk; nach der Einwirkung desselben folgte eine 15 Nachbehandlung mit doppeltschwefligsaurem Kalk, wodurch die letzten Spuren freien Chlors gebunden wurden. SCHUMBURG (2) findet es zweckmäßiger, an Stelle des Chlores Brom zur Wasserdesinfektion zu verwenden und zwar in Form einer Brom-Bromkaliumlösung. Für 1 Liter Wasser sollen 0,06 g Brom bei 5 Minuten langer Einwirkung zur sicheren 20 Sterilisation genügen. Das überschüssige Brom wird durch Ammoniak entfernt. Nicht nur von hygienischem, sondern auch von allgemein gärungsphysiologischem Interesse ist die Diskussion, welche sich im Anschluß an die Arbeiten SCHUMBURG's über die Methodik des Nachweises von Keimen in Flüssigkeiten, die mit Desinfektionsmitteln behandelt 25 worden sind, entsponnen hat. Es sei in dieser Hinsicht auf die Arbeiten von SCHÜDER (1), SCHUMBURG (2) und BALLNER (1) verwiesen.

Die **Flußsäure** (HFl) und deren Salze haben sich als starke Bakteriengifte erwiesen, während Sproßpilze gegen diese Substanzen entschieden weniger empfindlich sind. So wächst nach BOKORNY (1) Preß-30 hefe in einer mit 0,02 Proz. Flußsäure versetzten Peptonlösung sehr gut, während gleichzeitig zugesetzte Fäulnisbakterien sich wenig entwickeln. Für die Gärungsgewerbe ist von besonderer Bedeutung die Anpassungsfähigkeit der Hefen an relativ große Dosen von Bakteriengiften. Auf dieser Anpassung beruht das von EFFRONT in die Brennerei 35 eingeführte und auf S. 300 u. f. des Fünften Bandes besprochene „Flußsäureverfahren." Ein Zusatz von Fluorammonium in der Menge von 10—15 g pro hl Saftabzug empfiehlt VAN VOOS (1) zur Verhinderung der Gärung auf der Diffusionsbatterie der Zuckerfabriken. Ueber das hauptsächlich aus Kieselfluorwasserstoffsäure bestehende Montanin 40 vergl. Bd. V, S. 183.

Wie die Flußsäure und die oben besprochene schweflige Säure zeigen auch die anderen Mineralsäuren besonders gegenüber Bakterien schon in starken Verdünnungen eine schädigende Wirkung, während Sproßpilze sich als viel weniger empfindlich erweisen. Einige dahin 45 zielende, Schwefelsäure und Salzsäure betreffende Angaben sind im § 74 des Fünften Bandes zu finden.

Die Wirkung von Ozon (O_3) und Wasserstoffsuperoxyd (H_2O_2) beruht auf gemeinschaftlicher Ursache, nämlich auf der zersetzenden Kraft freiwerdenden Sauerstoffes. Mit dem hierbei in Be-50 tracht fallenden Spaltungsprozeß ist der besondere Vorteil verbunden, daß die Spaltungsprodukte vollständig indifferenter Natur sind. Indem das Desinfektionsmittel wirkt, verschwindet es als solches, und an seine Stelle tritt Sauerstoff, bezw. Sauerstoff und Wasser. Ein auf solcher

Grundlage aufgebautes Entkeimungssystem scheint für die Anwendung auf zum menschlichen Genusse dienende Medien ganz besonders geeignet zu sein.

Was zunächst das **Ozon** betrifft, so hat H. SONNTAG (1) gefunden, daß dessen keimtötende Kraft nur gering ist. Andere Forscher, so z. B. OBERDÖRFFER (1) und WYSSOKOWITSCH (1), sind zu etwas günstigeren Ergebnissen gekommen. Zufolge der Versuche von OHLMÜLLER (1) vermag dieses Gas dann kräftiger einzuwirken, wenn man es (mit Sauerstoff gemischt) durch die Bakterienaufschwemmung hindurch leitet. Diese Angaben wurden von RANSOME und FOULERTON (1) bestätigt. OHLMÜLLER hat festgestellt, daß 90 mg Ozon in 100 ccm Flüssigkeit vorhanden sein müssen, damit Sporen von Milzbrandbazillen abgetötet werden. Nach den Versuchen von CHRISTMAS (1) wird das Keimtötungsvermögen des Ozons dann gleich Null, wenn dessen Menge unter 0,05 Vol.-Proz. sinkt. Man wird also von dem noch bedeutend niedrigeren (1—10 mg pro 100 l ausmachenden) Ozongehalte der Atmosphäre eine desinfizierende Wirkung kaum erwarten können. Immerhin waren die erwähnten Versuchsergebnisse aufmunternd genug gewesen, um eine Trinkwasserbehandlung durch Ozon im großen an Stelle der Filtration, z. B. bei der Benutzung von Fluß- oder Seewasser, ins Auge zu fassen. Eine Zusammenstellung über die Resultate entsprechender Vorversuche hat schon im Jahre 1895 E. VAN ERMENGEM (1) gegeben. Im Jahre 1899 hat dann CALMETTE (1) die Ozonisierung für die Trinkwasserversorgung der Stadt Lille angeregt. Auch in Deutschland sind in neuerer Zeit versuchsweise Ozon-Wasserwerke erstellt worden, so in Martinikenfelde bei Berlin und in Schierstein bei Wiesbaden. An beiden Stellen wurden bakteriologische und chemische Prüfungen bezüglich der Wirksamkeit der Behandlung vorgenommen. Ueber die Resultate solcher Untersuchungen haben OHLMÜLLER und PRALL (1) sowie PROSKAUER und SCHÜDER (1) berichtet. Uebereinstimmend ist für die beiden Anlagen gefunden worden, daß die wichtigsten pathogenen Keime der Vernichtung anheimfallen und daß überhaupt eine starke Verminderung des ursprünglichen Keimgehaltes des Wassers eintritt, vorausgesetzt, daß die Ozonisierung eine genügend kräftige ist; bei der Bemessung der letzteren hat man sich nach der Menge der im betreffenden Wasser vorhandenen oxydierbaren Substanz zu richten. Von besonderer Wichtigkeit ist die innige Mischung des Wassers mit der ozonisierten Luft. Eine kritische Uebersicht der verschiedenen hierfür vorgeschlagenen Verfahren ist in einer neueren Arbeit von SENÉQUIER und LE BARON (1) enthalten. Ueber die Verwendbarkeit des Ozons als Antiseptikum im Brauereibetrieb hat WOOD-SMITH (1) eine Reihe von Versuchen mit befriedigendem Ergebnisse angestellt.

Das **Wasserstoffsuperoxyd** würde aus bereits angegebenen Gründen das Ideal eines Antiseptikums sein, wenn nicht einerseits der hohe Preis und dann auch die relative Beständigkeit des bei der Desinfektionswirkung nicht in Aktion getretenen Anteils hindernd im Wege ständen. Das keimvernichtende Vermögen des Wasserstoffsuperoxyds ist recht bedeutend. In teilweiser Verbesserung der durch v
Angaben ist von ALTEHOEFER (1) und von P. Sc
worden, daß ein Zusatz von 0,1 Proz. zum Trinkw
tötet: die gewöhnlichen Wasserbakterien, die i
lich vorkommenden Mikroben und die Erreger
Eine Geschmacksveränderung soll dieser Zus

und eine nachteilige Beeinflussung der Gesundheit um so weniger, als angenommen werden kann, daß das Superoxyd sich im Organismus rasch zersetzt. Das bezüglich des Geschmackes Gesagte scheint allerdings nicht uneingeschränkte Geltung zu haben, wenigstens haben bei 5 Versuchen über Konservierung von Milch mittelst Wasserstoffsuperoxyd sowohl CHICK (1) wie ROSAM (1) übereinstimmend festgestellt, daß bei Anwendung solcher Mengen des Antiseptikums, die zur Erreichung einer gewissen Haltbarkeit der Milch notwendig sind, die letztere einen eigentümlichen Beigeschmack bekommt und auch behält. ROSAM hat außer-10 dem darauf aufmerksam gemacht, daß die konservierende Kraft des Superoxyds sich viel ausgesprochener bei vorher pasteurisierter als bei roher Milch geltend macht. Dieser Umstand ist jedenfalls darauf zurückzuführen, daß in der rohen Milch die ungeschwächten Enzyme einen großen Teil des Wasserstoffsuperoxyds in Beschlag nehmen, bezw. in 15 Wasser und Sauerstoff spalten. Die gleiche Spaltung vermögen übrigens auch lebende Bakterien hervorzurufen, und zwar findet z. B. im Wasser eine um so lebhaftere Gasentbindung statt, je mehr Bakterien im ccm vorhanden sind. GOTTSTEIN (1) hat seinerzeit vorgeschlagen, diese Reaktion als Hilfsmittel bei der Leistungsprüfung von Wasserfiltern zu 20 benutzen. Was die Anwendung von Wasserstoffsuperoxyd für rationelle Milchkonservierung im großen betrifft, so ist nach BARTHEL (1), welcher das BUDDE'sche Verfahren (vergl. Bd. II, S. 265) einer Kritik unterzog, für diesen Zweck das gewöhnliche Präparat des Handels zu unrein, das reine Präparat zu teuer. ALLIOT und GIMMEL (1) haben Wasserstoffsuper-25 oxyd und damit vergleichend einige andere Sauerstoff abgebende Stoffe auf ihren Einfluß auf den reinen Verlauf der alkoholischen Gärung in Bierwürze hin geprüft. Auf die Ergebnisse dieser Arbeit, welche die Verwendung von Mangansuperoxyd und Calciumhypochlorit für die Zwecke der Praxis empfehlenswert erscheinen lassen, sei hier aufmerk-30 sam gemacht.

Die **Kalkmilch** ist in frischem Zustande ein ziemlich kräftiges Desinfiziens. Sie verliert jedoch diese Eigenschaft, sobald das Calciumhydroxyd in Karbonat übergegangen ist; denn letzteres ist für viele Organismen unschädlich, für andere (insbesondere für die säurebildenden) 35 sogar förderlich. Nach den Untersuchungen von E. PFUHL (2) genügt es, zwei Raumteile Kalkmilch zu flüssigen Fäkalien zu geben und eine Stunde lang einwirken zu lassen, um die darin enthaltenen Typhus- und Cholerabakterien sicher abzutöten. Ueber die Einwirkung der Kalkmilch auf die Hefenzellen und über die Tauglichkeit jener zur Desin-40 fizierung der Mauern der Brauereien haben STEUBER (1) und CHR. KNOESEL (1) einige Versuche angestellt. In den Molkereien ist Kalkmilch als Reinigungsmittel für Wände und Decken sehr beliebt. Dieselbe soll in neuerer Zeit, wie BÖGGILD (1) mitteilt, in Dänemark auch zur Reinigung des Holz- und Blechgeschirrs immer ausgedehntere An-45 wendung finden und das bisher übliche Dämpfen, wie auch die Benützung der Soda zum Teil verdrängen.

Die **Soda** ist in ihrer Wirkungsweise dem Kalkhydrat an die Seite zu stellen; in beiden Fällen sind es die stark alkalischen Eigenschaften, welche den Mikroorganismen verderblich werden. Mehrprozentige Soda-50 lösungen enthalten, namentlich wenn sie recht warm angewendet werden, eine nicht zu unterschätzende keimvernichtende Kraft. So werden nach KURPJUWEIT (1) durch eine Lösung von 2:100 bei 50—52° C getötet: *Bact. coli* in 5 Minuten, die Erreger von Typhus und Ruhr in einer

Minute. Zum Reinigen von Gefäßen jeder Art, wobei die mechanische Loslösung der Schmutzteilchen und die Verseifung des Fettes eine wichtige Rolle spielen, ist die Soda in vortrefflicher Weise geeignet. Nur muß natürlich auf die Sodabehandlung eine gründliche Spülung mit reinem Wasser folgen. Gegen Hefen äußern sich 5- und 10-proz. Soda- 5 lösungen nach STEUBER (1) kaum entwicklungshemmend. Beim Reinigen der Rohrleitungen der Brauereien durch Sodalösung muß die Desinfektion hauptsächlich durch den Wärmegrad der Lösung zu erreichen versucht werden.

Borsäure und Borax, die als Konservierungsmittel eine aus- 10 gedehnte Anwendung finden, besitzen ein so wenig ausgeprägtes Keimtötungsvermögen, daß sie kaum als Antiseptika bezeichnet werden können. Nach ROLLY (1) war bei einer verdünnten Fleischlösung, die 0,25 und 0,18 Proz. Borax zugesetzt erhalten hatte, keine hemmende Wirkung auf die Fäulnis wahrzunehmen. Erst bei 0,5—2 Proz. Borax- 15 zusatz zeigte sich eine anfängliche Verminderung, dann aber wieder eine Vermehrung der Bakterienzahl. Man vergleiche auch Bd. IV, S. 135.

§ 121. Organische Antiseptika.

Die in der Chirurgie nächst dem Sublimate sehr beliebte Karbol- 20 säure (Phenol), welche in drei- bis vierprozentiger wässeriger Lösung zur Waschung der Wunden dient, findet in den Gärungsgewerben keine Anwendung. Sie verdient aber dennoch hier erwähnt zu werden, und zwar aus dem Grunde, weil der Entdecker ihrer antiseptischen Wirkung, nämlich J. LEMAIRE (1), die wichtige Feststellung gemacht 25 hat, daß dieser Bestandteil des Steinkohlenteers zwar die Entwickelung der organisierten Fermente zu hemmen vermag, jedoch die Wirksamkeit der Enzyme nicht beeinträchtigt. Nach den Untersuchungen von R. KOCH bedarf es, um die Sporen des Milzbrandbazillus am Auskeimen zu verhindern, einer Lösung von 1 Teil Phenol in 850 Teilen Wasser. Das 30 Absterben dieser Dauerzellen erfolgt in 5-proz. Lösung erst nach mehr als 40 Tagen. Das reine Phenol ist übrigens Mikroorganismen gegenüber weniger wirksam als die meisten seiner Abkömmlinge. So ist z. B. die Desinfektionskraft der phenylsubstituierten Fettsäuren größer als diejenige des Phenols, und zwar wächst nach P. LAWS (1) der Unterschied 35 mit dem Molekulargewicht der Fettsäuren. Auch die drei Homologen des Phenols, nämlich die Kresole ($C_6H_4 \cdot OH \cdot CH_3$), wirken stärker desinfizierend als die Karbolsäure, haben sich aber in der Chirurgie trotzdem noch nicht ein entsprechendes Anwendungsgebiet erobert. Unter den drei Isomeren steht nach C. SEYBOLD (1) das Meta-Kresol be- 40 züglich der baktericiden Eigenschaften obenan.

In der Desinfektionspraxis finden vielfach nicht die genannten reinen Substanzen sondern die betreffenden rohen Ausgangsmaterialien, bezw. Kombinationen derselben, mit löslich machenden oder die Desinfektionskraft erhöhenden Zusätzen Anwendung. Einige Angaben über 45 die Zusammensetzung der bekannteren Desinfektionsmittel dieser Gruppe dürften hier am Platze sein, wenn auch die wenigsten dazu bestimmt sind, eine Rolle in den Gärungsgewerben zu spielen.

Die rohe Karbolsäure des Handels, sowie das Rohkresol sind Produkte der Steinkohlenteerverarbeitung von wechselnder Zusammen- 50

setzung und stark desinfizierender Kraft, welch letztere in beiden Flüssigkeiten in erster Linie auf deren Gehalt an Kresolen beruht. Nach C. FISCHER und F. KOCKE (1), welche über die genannten Rohprodukte und einige aus ihnen hergestellte Desinfektionsmittel ein-5 gehende Mitteilungen veröffentlicht haben, macht das Gemisch der isomeren Kresole 94,5 Proz. des Rohkresols aus. Aseptol ist eine durch Schwefelsäure unter Bildung von Sulfosäuren in löslichen Zustand übergeführte rohe Karbolsäure. Eine ähnliche Entstehung hat das Sanatol, das wahrscheinlich durch Behandlung von Rohkresol mit konzentrierter 10 Schwefelsäure bereitet wird. Kreolin ist eine Mischung von Seife mit einem Teeröle, welches wenig Phenole (Kresole usw.) und viel Kohlenwasserstoffe enthält. Es entsteht daher beim Eingießen des Kreolins in Wasser eine milchig-trübe Emulsion. Lysol und Sapokarbol sind Mischungen von Seife mit Teerölen, welche von Kohlenwasserstoffen 15 weniger und von Phenolen mehr aufweisen als die zuvor bezeichneten. Ein durch Seifenzusatz löslich gemachtes Kresolgemisch ist auch das Bacillol; die betreffende Seife besteht nach FISCHER und KOCKE wahrscheinlich aus sulfuriertem ölsauren Natron und freiem Natronhydrat. Das Kresolin setzt sich nach den Genannten aus 24,3 Proz. Kresolen, 20 kresolartigen Verbindungen und Kohlenwasserstoffen und 75,7 Proz. Harzseife zusammen. Das Kresapolin ist in seiner Zusammensetzung ähnlich der Kresolseifenlösung des deutschen Arzneibuches, aber bedeutend ärmer an Kresolen. Außer Seifen, die, nebenbei gesagt, fast gar keine desinfizierende Wirkung ausüben, dienen auch gewisse Salze 25 zur Löslichmachung der Kresole. So entsteht bei Verwendung von kresotinsaurem Natron das Solveol. Sehr viel Kresol wird von einer wässerigen alkalischen Lösung von Kresolnatrium aufgenommen; man erhält so das Solutol. Durch Vermischen einer 50- bis 60-proz. rohen Karbolsäure mit 20 Proz. ihres Gewichtes Mineralöl erhält man das 30 Saprol, das leichter als Wasser ist und auf Fäkalien gebracht nicht untersinkt.

Namentlich zur Haltbarmachung von Holzteilen, die der zerstörenden Einwirkung von Mikroorganismen ausgesetzt sind, dient ein anderes, aus den hochsiedenden Anteilen des Steinkohlenteeröls hergestelltes Pro-35 dukt, das Carbolineum Avenarius. Zu ähnlichen Zwecken verwendet man auch einen nitrierten Abkömmling des Kresols, das Orthodinitrokresolkalium, $C_6H_2\cdot(NO_2)_2\cdot CH_3\cdot OK$. Durch einen geringen Zusatz von Glycerin, Seife u. dergl. m. ist ihm seine Explodierbarkeit gänzlich genommen worden. Die rote, teigige Masse ist unter dem 40 Namen Antinonnin im Handel; der Name stammt von der erstmaligen Anwendung des Mittels gelegentlich der Bekämpfung der im Jahre 1892 die bayrischen und württembergischen Wälder verheerenden Nonnenraupe. Das Antinonnin löst sich bis zu 5 Proz. in Wasser klar zu einer tiefgelben, schwach seifig riechenden Flüssigkeit auf, welche nicht ätzend 45 wirkt und weder Metalle noch Gewebe angreift. Die Berichte über die Tauglichkeit dieses Antiseptikums lauten übereinstimmend günstig. Ueber dessen Verwendbarkeit zur Haltbarmachung der Bauhölzer hat STETTNER (1) eingehende Mitteilungen gemacht. Es soll sich als Vorbeugungsmittel gegen den Hausschwamm bewährt haben, wie 50 auch zur Imprägnierung der Eisenbahnschwellen und der für die Straßenpflasterung verwendeten Holzstöckel u. dergl. m.; Näheres darüber auf S. 316 und 324 des Dritten Bandes. Ein vorzügliches Mittel ist das Antinonnin, wenn es gilt, die Mauern eines Gebäudes trocken zu legen

und den Mauerfraß zum Stillstand zu bringen. Ueber erfolgreiche Anwendung des Mittels in den Brauereien hat Aubry (1) berichtet; vergl. auch Bd. V, S. 183.

Ein erfolgreicher Konkurrent scheint dem genannten Antiseptikum in dem *Antigermin* entstanden zu sein (vergl. Bd. V, S. 183), das im wesentlichen aus dem Kupfersalz einer organischen Säure besteht und sich speziell dem Hausschwamm gegenüber nach vergleichenden Untersuchungen von G. Wesenberg (1) in 0,5-proz. Lösung ebenso wirksam erwies als die 1-proz. Lösung des Antinonnins (vergl. Bd. III, S. 317). Ueber *Mikrosol* vergleiche man Bd. V, S. 183, und die Mitteilungen von Seufferheld (1) und R. Braun (1).

Bei den für hygienische Zwecke empfohlenen sogen. *desinfizierenden Wandanstrichen*, die hier auch Erwähnung finden mögen, handelt es sich um Farben verschiedener Zusammensetzung, die nach Jacobitz (1) im günstigsten Fall noch 10 Wochen nach erfolgtem Anstrich antiseptische Eigenschaften nachweisen lassen. Die letzteren erklärt Rapp (1) als mit Oxydationsvorgängen zusammenhängend, die in dem als Bindemittel verwendeten Leinöl vor sich gehen, ohne damit sagen zu wollen, daß die von Jacobitz qualitativ in den Ausdünstungen solcher Anstriche nachgewiesenen Produkte, wie Formaldehyd, Acrolein und Acetaldehyd, allein genügen, um die antiseptische Wirkung hervorzubringen.

Ein Antiseptikum, das sich besonders gut zum Imprägnieren von Eisenbahnschwellen eignen und auch vor dem Hausschwamm schützen soll, ist nach Charitschkoff (1) in den Kupfersalzen der Naphtensäuren gefunden worden. Das Präparat wird durch Umsetzung der Petroleumreinigungsrückstände mit Kupfersulfat und Lösung in Gasolin erhalten. Das saure Salz ist in Wasser vollkommen unlöslich, eine Eigenschaft, die übrigens nicht gerade zugunsten der Möglichkeit einer wirksamen Imprägnierung spricht.

Auf weitere, durch ihre kräftige keimtötende Wirkung ausgezeichnete, aber mehr für die medizinische Richtung Beachtung erfordernde Verbindungen der aromatischen Reihe sei nur hingewiesen, so auf das *Chinosol*, dem Benecke (1) eine interessante Studie gewidmet hat, und die *Ergole*, über welche Gautrelet (1) berichtet.

Die **Alkohole** der Fettreihe sind alle mehr oder weniger baktericid; nur Mikroorganismen, welche selber Alkohol erzeugen, oder solche, welche ihn als Energiequelle benützen, können größere Mengen desselben ertragen. Daß der Aethylalkohol noch in starker Verdünnung die Sporen des Milzbrandbazillus am Auskeimen zu verhindern vermag, hat seinerzeit schon R. Koch gezeigt. Aber erst in neuerer Zeit hat man, und zwar wiederum von medizinischer Seite, der Frage der desinfizierenden Kraft des Alkohols größere Aufmerksamkeit geschenkt. Als wichtiges Ergebnis der betreffenden Studien, so derjenigen von Hanel (1), Barsikow (1), G. Wirgin (1) u. a., ist zu verzeichnen, daß die stärkste keimtötende Wirkung nicht dem absoluten oder l zentigen, sondern einem 50- bis 60-proz. Alkohol zukommt. Die tümlichkeit hängt jedenfalls damit zusammen, daß absoluter vegetative Formen wie auf Sporen an den Berührungsst entziehend wirkt und die betreffende Zone so verändert, Eindringen des Desinfiziens nicht möglich ist. Der wird sich eines entsprechend verdünnten Alkohols, d unter Umständen eine 0,1-proz. Sublimatlösung in

übertrifft, in vielen Fällen mit Vorteil bedienen. Besonders gegen Schimmelsporen bietet er ein treffliches Abwehrmittel. Im Laboratorium tut man gut, die Pasteurkolben vor der Ueberimpfung im ganzen, insbesondere aber auch an jenen beiden Stellen mit Alkohol zu waschen, 5 an denen der Kautschukschlauch einerseits an dem Seitenrohr des Kolbens aufsitzt und andererseits mit dem Glasstöpsel verschlossen ist. Die Oberfläche des Tisches, auf welchem die Ueberimpfung vorgenommen werden soll, bezw. das Innere eines eventuell verwendeten Schutzgehäuses, reinigt man ebenfalls mit 60-proz. Alkohol. Eine Desinfektion 10 der Hände mit solchem Alkohol ist nach vorausgegangener Reinigung mit Seife immer zu empfehlen, wenn es sich um eine heikle Ueberimpfung handelt. Alkoholdämpfe wirken in Gegenwart von Wasserdampf ebenfalls desinfizierend; so sollen nach W. von Brunn (1) die Dämpfe des 75-proz. Alkohols in der Wirkung fast dem strömenden 15 Wasserdampf gleichkommen, während diejenigen des 95-proz. Alkohols sozusagen unwirksam sind. Nach Seige (1) hat bei vergleichenden Desinfektionsversuchen mit verschiedenen Gemischen von Wasser und Alkohol Dampf mit einem Gehalt an Alkohol von 46—66 Proz. am besten gewirkt, ist aber vom strömenden Dampf noch übertroffen worden.

20 Der **Aethyläther** ist ebenfalls ein recht kräftiges Antiseptikum, welches von Wollny (1) zum Zwecke der Sterilisierung von Nährlösungen auf kaltem Wege vorgeschlagen worden ist. Der Aether wird in der Menge von 10 Proz. der Flüssigkeit zugesetzt und dann, nachdem er die Keime abgetötet hat, aus ihr unter der Luftpumpe wieder 25 entfernt. Der Vorzug, den dieses Verfahren vor der Keimtötung durch Erhitzen hat, besteht darin, daß er jene Eiweißkörper unverändert läßt, welche bei Siedetemperatur gerinnen. Uebrigens scheint die Methode nicht zuverlässig zu sein, in der Milch wenigstens (s. Bd. II, S. 150) werden die Dauerformen nur an der Auskeimung verhindert, aber nicht 30 abgetötet, und die Versuche, mittelst Aether auf dem angegebenen Wege Getreidemehle zu sterilisieren, haben ebenfalls nicht immer zu günstigen Ergebnissen geführt. Auch das Chloroform ist insbesondere zur Sterilisierung der Milch auf kaltem Wege empfohlen worden, doch dürfte nach den vorliegenden Erfahrungen eine vollständige Entkeimung 35 nur bei solchen Proben zu erwarten sein, die frei von widerstandsfähigen Sporen sind; vergl. auch Bd. II, S. 150. Von den antiseptischen Eigenschaften des Aethers, Chloroforms, Acetons, wie auch des Toluols (s. Bd. III, S. 122, und Bd. IV, S. 358), Thymols und verwandter Verbindungen macht der physiologische Chemiker vielfach Gebrauch, wenn 40 es sich darum handelt, Enzymwirkungen unbeeinflußt von den Begleiterscheinungen der Mikrobentätigkeit zu verfolgen, oder wenn bei Substanzen, die leicht der Zersetzung und Gärung anheimfallen, sich die für die Untersuchung notwendigen Operationen auf eine längere Zeit erstrecken.

45 Der **Formaldehyd** (H·CHO), manchmal auch Formol genannt, hat vor etwa 10 Jahren, insbesondere infolge der Arbeiten Trillat's (1), begonnen, die allgemeine Aufmerksamkeit auf sich zu lenken, und eine Zeitlang schien es, als ob diese Substanz berufen sei, die Rolle eines Universal-Desinfektionsmittels der Zukunft zu spielen. Auf die anti- 50 septische Kraft des Formaldehyds hatten schon zuvor O. Loew (1) sowie H. Buchner und Segall (1) hingewiesen. Aronson (1) hat gefunden, daß Typhusbazillen, Eiterkokken und Milzbrandbazillen in einer Bouillon, die mit 0,005 Proz. dieses Aldehydes versetzt worden war, sich

nicht entwickelten. Den Versuchen von J. Stahl (1) und von E. van Ermengem und Sugg (1) zufolge werden die Sporen von Milzbrandbazillen, wie auch die zählebigen Dauerformen aus der Gartenerde durch eine 0,1-proz. Lösung von Formaldehyd bei einstündiger Einwirkung getötet. Eine Verdünnung von 1 : 750 führte schon binnen einer Viertelstunde das Absterben derselben herbei. Dieses Desinfiziens kommt also hinsichtlich des Wirkungsgrades den stärksten mineralischen Giften, nämlich dem Sublimat und dem Brom, gleich und übertrifft sie in Hinsicht auf Verwendbarkeit. Im Gegensatz zu dem genannten Quecksilbersalze ist der Formaldehyd für höhere Tiere und für Menschen nur wenig gefährlich. Er ist flüchtig, und seine Dämpfe verursachen Hustenreiz, was zur Folge hat, daß sie unwillkürlich gemieden und daher kaum in unzuträglicher Menge eingeatmet werden. Gefäße, in denen Gegenstände der Einwirkung von Formaldehyd in Form einer verdünnten Lösung ausgesetzt sind, müssen gut verschlossen sein, wenn die antiseptische Kraft der letzteren nicht verloren gehen soll. Der Formaldehyd kommt im Handel gewöhnlich als 40-proz. Lösung vor, die als Formalin bezeichnet wird. Für deren Prüfung auf Gehalt und Tauglichkeit hat Trillat (1) einige Verfahren angegeben. Für die hygienische Desinfektionspraxis liegt nun der hohe Wert des Formaldehyds ebenso sehr in der keimvernichtenden Wirkung der Dämpfe als in derjenigen der Flüssigkeit. Es erhebt sich die Frage, ob die gebräuchlichen Desinfektionsverfahren, nämlich die Behandlung von Kleidern, Wäsche u. dergl. mit heißem Dampf einerseits und dann das Abwaschen von Wänden und Fußböden, von Möbeln, Gebrauchsgegenständen usw. mit Sublimatlösung andererseits, nicht besser durch eine Desinfektion mit Formaldehyddämpfen zu ersetzen seien. Ein abschließendes Urteil darüber ist aus den zahlreichen nach dieser Richtung hin unternommenen Versuchen, die eine eigentliche Formaldehyd-Literatur ins Leben gerufen haben, noch nicht zu gewinnen. Soviel scheint aber aus den Berichten hervorzugehen, daß den Formaldehyddämpfen nicht jenes Ein- und Durchdringungsvermögen zukommt, das man von ihnen erwartet hatte, sondern daß deren allerdings recht kräftige Wirkung sich mehr oder weniger auf die Oberfläche und die leicht zugänglichen Teile der Objekte beschränkt. In betreff der Einzelheiten dieser Desinfektionsmethode muß auf die spezielle medizinisch-hygienische Literatur verwiesen werden. Eine vollständige Literaturzusammenstellung über Formaldehyd als Desinfektionsmittel bis zum Jahre 1898 gibt O. Hess (1). Speziell bezüglich Wohnungsdesinfektion sei auf Abba und Rondelli (1), Flügge (1), Elsner und Spiering (1) verwiesen. Kausch (1) hat vor kurzem eine Uebersicht über die aus der Patentliteratur bekannten Formaldehyd-Entwickler gegeben. Die bisher gemachten Angaben über die hohe antiseptische Kraft des Formaldehyds beziehen sich ausschließlich auf Bakterien. Für allfällige Anwendung dieses Desinfektionsmittels in der Gärungspraxis kommt natürlich ebenso sehr dessen Verhalten gegenüber Sproßpilzen in Betracht. Nach Versuchen von Windisch (2), die mit Lösungen des festen (polymerisierten) Triformaldehyds ausgeführt worden sind, fand noch kräftiges Hefenwachstum in Gegenwart von Formaldehydmengen statt, welche schon alle anwesenden Bakterien getötet hatten. Rothenbach (1) glaubt, daß sich mit Formaldehyd mindestens ebensogut eine reine Hefenführung erzielen läßt wie mit Salz- oder Flußsäure. Daß aber auch der Formaldehyd schon in mäßigen Konzentrationen die Rolle eines kräftigen Hefen-

giftes spielen kann, das zeigen die von WEHMER (1) und von WILL (3) mitgeteilten Versuche. Ueber die Verwendung von Formaldehyd als Desinfektionsmittel in der Brauerei hat sich in recht günstigem Sinne M. WALLERSTEIN (1) geäußert. Auch SEIFERT (1), der über die Wirkung 5 des Formaldehyds auf verschiedene Mikroorganismen des Weines berichtet, hat gefunden, daß z. B. die Essigbakterien viel empfindlicher sind als die Weinhefe und die Mycodermen. Immerhin wirkte Formaldehyd auf die erstere (Rasse *Klosterneuburg*) bei schwacher Aussaat schon bei 5:100000 gärungsverzögernd, und bei 16,5:100000 wurde die Gärung 10 ganz unterdrückt. Bei stärkerer Hefenaussaat fand eine Verschiebung dieses Verhältnisses auf 25:100000 bezw. 50:100000 statt. O. GELM (1) kann die günstigen Erfolge, welche BERSCH (1) bei Anwendung des Formalins als Desinfektionsmittel im Kellereibetriebe erzielt hat, nur teilweise bestätigen und fordert zu weiteren Versuchen auf. Für Unterdrückung 15 der in Zuckerfabriken auftretenden Gärungen wäre nach A. SCHOTT (1) das Formalin überhaupt nicht geeignet, während A. HERZFELD (1) sich seinerzeit wenigstens von einer Desinfektion der mit Schimmel verunreinigten Zuckerböden mittelst der TOLLENS'schen Lampe, in welcher durch unvollständige Verbrennung von Methylalkohol gasförmiger For- 20 maldehyd erzeugt wird, eine gute Wirkung versprochen hatte. Ueber die Anwendung des Formalins zur Entkeimung der Milch sind die Ausführungen auf S. 267 des Zweiten Bandes einzusehen. Ob sich das Formalin auch zur Desinfektion der Räume und Geräte der Molkereien eignet, darüber scheinen Versuche auf genügend breiter Grundlage noch 25 nicht angestellt zu sein. Ueber die Unschädlichmachung von mit Milzbrandkeimen infizierten tierischen Häuten mit Hilfe von Formaldehyddämpfen vergl. Bd. V, S. 23.

Die organischen Säuren wirken schon in geringen Mengen insbesondere auf Fäulnisbakterien tötend. Diese Säuren und unter ihnen 30 in erster Linie die Milchsäure können als das vornehmste Konservierungsmittel, dessen die Natur selbst sich bedient, betrachtet werden. Aus diesem Verhältnis ziehen wir vielfachen Nutzen, nicht nur indem wir die natürliche Säurebildung fördern und in die für unsere Zwecke günstigen Wege leiten, so im Brennereibetriebe, bei der Sauerteig-, 35 Sauerfutter- wie auch bei der Käsebereitung, sondern auch durch Würdigung der Bedeutung der Säure in der Sterilisations- und Konservierungstechnik. Die Benzoesäure wird mitunter in sträflicher Weise der Milch zur Erhöhung ihrer Haltbarkeit zugesetzt, und zu ähnlichen Zwecken wird auch ab und zu die Salicylsäure verwendet. Was die erstere 40 betrifft, so beeinträchtigt sie schon in verhältnismäßig geringer Gabe die Alkoholgärung (s. Bd. IV, S. 139) recht empfindlich, und es ist ihrer Wirkung zuzuschreiben, daß der Saft der Preißelbeeren (*Vaccinium Vitis Idaea*) so schwer in Gärung zu bringen ist, denn er enthält von dieser Säure beträchtliche Mengen; MACH und PORTELE fanden davon 0,64— 45 0,86 g im Liter vor. Mit diesem Befund steht ein neuerer von G. F. MASON (1) in annähernder Uebereinstimmung, wonach in 2000 Teilen Beeren 1 Teil Benzoesäure enthalten war.

§ 122. Gemischte Sterilisierungsverfahren.

Nicht immer wird in einem gegebenen Falle die Frage nach der 50 geeignetsten Sterilisationsmethode ihre richtige Beantwortung dadurch

finden können, daß man sich für **einen** der in den vorhergehenden Paragraphen näher bezeichneten Wege entscheidet. Der Fall kann so liegen, daß ein Gegenstand durch Anwendung dieser oder jener Methode überhaupt nicht in befriedigender Weise sterilisiert werden kann, sondern nur dann, wenn zwei, eventuell sogar mehr Sterilisierungsarten 5 in geeigneter Weise verbunden zur Anwendung gelangen. Der Zweck dieser kombinierten Anwendung verschiedener Sterilisierungsmittel ist die höchstmögliche Schonung des zu sterilisierenden Gegenstandes. Daß mit der mehr oder weniger vollkommenen Erreichung dieses Zweckes unter Umständen eine wirksame Sterilisierung steht und fällt, liegt auf 10 der Hand.

Was die geeignete Verbindung verschiedener Sterilisationswege betrifft, so muß diese je nach der Natur des zu sterilisierenden Gegenstandes eine besondere sein. Wir können ein physikalisches Keimtötungsmittel zusammen mit einem chemischen anwenden, wir können 15 physikalische Mittel verschiedener Art kombinieren, oder ein und dasselbe Mittel in verschiedenen Anwendungsformen benützen. Die beiden letztangedeuteten Wege kommen speziell im Laboratorium zur Bedeutung, wo sie dazu dienen, bestimmte Nährböden, die bei der Sterilisierung durch strömenden oder gespannten Dampf in ihrer chemischen Zu- 20 sammensetzung leiden würden, von Keimen zu befreien. Beispielsweise hat Leube (1) für das Studium der Harnstoffbakterien seine Harnstoffbouillon in der Weise bereitet, daß er die Bouillon allein im Dampf, den Harnstoff aber durch Erhitzen im Heißluftschrank auf trockenem Wege sterilisierte und die beiden Bestandteile nach der Sterilisation ver- 25 einigte. Auf diese Weise ist die in wässeriger Lösung schon bei 100° C vor sich gehende Umlagerung des Harnstoffs in kohlensaures Ammon vermieden worden. Mazé (1) sterilisierte die Milchzuckerlösung als Bestandteil seines Nährbodens für Milchzucker vergärende Hefen in der Kälte durch Filtration und fügte nachher die erforderliche Menge dem 30 im Dampf sterilisierten zuckerfreien Nährboden zu. Auf diese Weise war die Sicherheit geboten, daß in der nicht geimpften Nährlösung keine Inversionsprodukte, überhaupt keine Umwandlungsprodukte des Milchzuckers enthalten waren. Die kombinierte Anwendung physikalischer und chemischer Keimtötungsmittel spielt bei Herstellung der 35 Nährböden für wissenschaftliche Untersuchungen aus naheliegenden Gründen nur eine untergeordnete Rolle. Um so größer ist die Bedeutung dieses Prinzips für die praktische Sterilisationstechnik, und zwar handelt es sich hier ausschließlich um die vereinigte Anwendung von Wärme einerseits und von antiseptisch wirkenden Substanzen 40 andererseits.

Noch wenig ausgebaut ist bis heute das Prinzip der Anwendung von Wärme unter **absichtlichem** Zusatz, bezw. genau bemessenem Zutritt eines Antiseptikums. Es scheint aber, daß auf diesem Wege noch große Erfolge zu erwarten sind. So haben neuere Arbeiten von E. von Es- 45 march (2) und Herzog (1) ergeben, daß Wasserdämpfe von der relativ niedrigen Temperatur von etwa 75°, wenn ihnen Formaldehyddampf beigemischt ist, ein außerordentlich hohes Keimvernichtungsvermögen besitzen. Man wird natürlich aus dieser Tatsache dann Vorteil ziehen, wenn es sich um die Sterilisierung von Gegenständen handelt, die durch 50 strömenden oder gespannten Dampf in ihrer Beschaffenheit unvorteilhaft verändert würden. In derselben Richtung liegen auch die Bemühungen von G. Frank (1), die zur Borsten- und Pinselindustrie verwendeten

tierischen Haare nicht durch die gewöhnliche Dampfdesinfektion, sondern durch Behandeln mit den Dämpfen des Spiritusvorlaufs oder durch gleichzeitige Behandlung mit Vorlauf- und Formaldehyddämpfen bei gelinder Wärme in schonender Weise von den Sporen des Milzbrandbazillus zu befreien. Was hier und in ähnlichen Fällen bei der Entkeimung fester Gegenstände ausschlaggebend ist, nämlich die Wirkung von mäßiger Wärme zusammen mit derjenigen eines Antiseptikums, wobei das letztere es gestattet, die Wärmewirkung auf ein dem zu sterilisierenden Objekte zuträgliches Mindestmaß zu beschränken, das findet sich im Prinzipe wieder beim Sterilisieren von Flüssigkeiten, die infolge ihres Gehaltes an keimvernichtenden oder wenigstens entwickelungshemmenden Substanzen durch Erwärmen auf relativ niedrige Temperaturen in den gewünschten Zustand der Haltbarkeit übergeführt werden.

Ein Fall der praktischen Anwendung dieses Prinzipes liegt in der *Haltbarmachung der alkoholischen Getränke* vor. In Anbetracht des Gehaltes dieser Flüssigkeiten an Alkohol und organischen Säuren ist es erklärlich, daß denselben durch ein gelindes, noch weit unter dem Siedepunkte verbleibendes Erwärmen der Charakter einer Dauerware verliehen werden kann. Ob dabei eine wirkliche oder eine scheinbare Sterilisation eintritt, kommt für praktische Zwecke zunächst nicht in Betracht. Die älteste Anwendung der Erhitzung zur Haltbarmachung alkoholischer Getränke ist bei den Japanern zu suchen, welche nach KORSCHELT (1) ihr Reisbier oder *Saké* mittelst Erwärmung seit viel mehr als 100 Jahren in gutem Zustande durch die heißen Sommermonate bringen. In Europa wurde ein solches Verfahren zuerst im Jahre 1782 durch SCHEELE (1) erfunden. APPERT schlug dann im Jahre 1810 das Aufwärmen der in verkorkten Flaschen aufgefüllten Weine auf 75° C vor. Diese Temperatur benahm jedoch, wie sich bald zeigte, den Rotweinen den feinen Geschmack. VERGNETTE-LAMOTTE (1) ging dann im Jahre 1865 bis auf 50° C hinunter und vermied so diese unangenehme Nebenwirkung, ohne das Hauptziel zu verfehlen. Zu derselben Zeit hatte PASTEUR (2) in Verfolgung seiner Studien über die Krankheiten des Weines erkannt, daß dieser durch ein Aufwärmen auf 55—60° C zuverlässig vor dem Verderben gefeit werden kann. Das dem damals schon in hohem Ansehen stehenden Forscher patentierte Verfahren wurde bald von den Praktikern angenommen und mit der Bezeichnung *Pasteurisieren* belegt. Bezüglich der technischen Seite dieses Verfahrens muß auf die Spezialliteratur verwiesen werden. Nähere Angaben über die in Betracht fallenden biologischen Verhältnisse sind in dem über Bier und Wein handelnden 7. bezw. 18. Kapitel des Fünften Bandes zu finden.

Auch die Herstellung *unvergorener* bezw. *alkoholfreier Trauben- und Obstweine* beruht auf dem Prinzip des gemischten Sterilisierens. Da in den betreffenden Flüssigkeiten das keimhemmende Moment des Alkohols in Wegfall kommt, so ist im allgemeinen eine stärkere Wärmewirkung und vor allem eine vollständige Vernichtung der Hefenzellen erforderlich, wenn jene Haltbarkeit erzielt werden soll, ohne welche solche Produkte niemals den Charakter einer handelsfähigen zur allgemeinen Einführung geeigneten Ware erreichen würden. Es ist insbesondere MÜLLER-THURGAU (2), welcher mit dieser Angelegenheit eingehend sich beschäftigt und eine praktische Anweisung zum Pasteurisieren dieser Getränke verfaßt hat; man vergleiche darüber Bd. V, S. 68 und 69.

Hingegen ist das auf S. 273 u. f. des Zweiten Bandes ausführlich besprochene sogen. Pasteurisieren der Milch nicht ohne weiteres der Wein- und Bierpasteurisierung an die Seite zu stellen, weil der Vorgang bei der Milch insofern ein prinzipiell verschiedener ist, als hier von einer Unterstützung der Wärmewirkung durch antiseptisch wirkende Bestandteile der Flüssigkeit nicht gesprochen werden kann. Anders liegt der Fall, wenn die Milch behufs leichterer Haltbarmachung einen künstlichen Zusatz eines Antiseptikums erhält, wie das beim sogen. Buddesieren (s. Bd. II, S. 265) geschieht. Hier liegt eine Anwendung des gemischten Sterilisierungsverfahrens in typischer Weise vor.

Literatur

zum Kapitel Das Sterilisieren.

***Abba,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 23, S. 462. ***Abba,** F., und **Rondelli,** A., (1) Z. f. Hyg., 1898, Bd. 27, S. 49. ***Aderhold,** Rud., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 18. ***Alliot,** H., und **Gimmel,** G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 138, S. 911. ***Altehoefer,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 129. ***Arloing,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1892, Bd. 114, S. 1455. ***Aronson,** Hans, (1) Z. f. Hyg., 1897, Bd. 25, S. 168. ***Aubry,** Louis, (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1893, Bd. 16, S. 141. ***Ballner,** Franz, (1) Arch. f. Hyg., 1903, Bd. 48, S. 140. ***Barsikow,** M., (1) Pharm. Ztg., 1901, Bd. 46, S. 49. ***Barthel,** Chr., (1) Molkereiztg., Berlin, 1903, Bd. 13, S. 133. ***Bassenge,** (1) Z. f. Hyg., 1905, Bd. 20, S. 227. ***Beijerinck,** M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 171. ***Benecke,** Franz, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 65. ***Bersch,** (1) Cit. n. Gelm (1). ***Böggild,** (1) Milchzeitg., 1902, Bd. 31, S. 562. ***Bokorny,** Th., (1) Ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 603. ***Bordas,** F., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 138, S. 1287. ***Brand,** J., (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1900, Bd. 23, S. 216. ***Braun,** R., (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1904, Bd. 27, S. 830. ***Brunn,** W. **von,** (1) Berlin. klin. Wochenschr., 1900, H. 23; ref. in Chem. Centralbl., 1900, Bd. II, S. 1160. ***Buchner,** H., und **Segall,** (1) Münchn. med. Wochenschr., 1889, H. 20; ref. in Chem. Centralbl., 1889, Bd. II, S. 460. ***Burri,** R., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895. Bd. 1, S. 627. ***Calmette,** A., (1) Ann. Pasteur, 1899, Bd. 13, S. 344. ***Charitschkoff,** K., (1) Inžener, 1898, S. 453; ref. in Chem. Centralbl., 1899, Bd. I, S. 438. ***Chick,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 705. ***Christen,** Th., (1) Mitteilungen a. Kliniken u. med. Inst. d. Schweiz, 1895, Reihe 3, Heft 2. ***Christmas, de,** (1) Ann. Pasteur, 1893, Bd. 7, S. 776. ***Clayton,** G. C., (1) Journ. Soc. Chemical Ind., 1896, Bd. 15, S. 321, Liverpool Sect.; ref. in Chem. Centralbl., 1896, Bd. II, S. 253. ***Dachnjewski,** (1) Ref. in Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 16, S. 664. ***Duclaux,** E., (1) Ann. Pasteur, 1892, Bd. 6, S. 593. — (2) Ebenda, 1893, Bd. 7, S. 751. — (3) Traité de microbiologie, 1899, Bd. 1, S. 104. ***Eijkman,** C., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 33, Orig., S. 567. ***Elion,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1896, Bd. 2, S. 512. ***Elsner,** M., und **Spiering,** (1) Deutsche med. Wochenschr., 1898, Bd. 24, S. 728. ***van Ermengen,** E., (1) Ann. Pasteur, 1895, Bd. 9, S. 673. ***van Ermengem,** E., und **Sugg,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 19, S. 91. ***Esmarch,** E. **von,** (1) Z. f. Hyg., 1887, Bd. 4, S. 197. — (2) Hyg. Rundsch., 1902, Bd. 12, S. 961. ***Fernbacher,** J., (1) Bayer. Brauer-Journal, 1902, Bd. 11, S. 516. ***Ficker,** (1) Z. f. Hyg., 1896, Bd. 22, S. 33. ***Fischer,** B., und **Proskauer,** B., (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt, 1884, Bd. 2, S. 228. ***Fischer,** Carl, und **Kocke,** F., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1903, Bd. 19, S. 577. ***Flügge,** C., (1) Z. f. Hyg., 1898, Bd. 29, S. 276. ***Flügge,** C., und **Sirotinin,** (1) Z. f. Hyg., 1888, Bd. 4, S. 208. ***Fraenkel,** Carl, (1) Z. f. Hyg., 1888, Bd. 5, S. 332. ***Frank,** Georg, (1) Z. f. öffentl. Chemie, 1899, Bd. 5, S. 340. ***Frankland,** (1) Z. f. Hyg., 1887, Bd. 3, S. 287. ***Frankland,** P. F., und **Ward,** M. H., (1) Proc. R. Society, London, 1892, Bd. 51, S. 183. ***Freudenreich,** Ed. **von,** (1) Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1891, Bd. 5, S. 16. ***Gautrelet,** E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 129, S. 113. ***Gelm,** J., (1) Staz. sperim. agrar. ital., 1899, Bd. 32, S. 305. ***Globig,** (1) Z. f. Hyg., 1887, Bd. 3, S. 321. ***Gottstein,** A., (1) Virchows Archiv, 1893, Bd. 133, S. 295. ***Hanel,** (1) Beitr. z. klin. Chirurgie, 1900, Bd. 26, S. 475. ***Hansen,** E. Chr., (1) Comptes rendus de Carlsberg, 1879, Bd. 1, S. 49 u. 197; Unters. a. d. Praxis d. Gärungsindustrie, 2. Heft, München 1892. ***Herzfeld,** A., (1) Zeitsch. d. Ver. f. d. Rübenzuckerindustrie d. Deutsch. Reichs, 1895, S. 529. ***Herzog,** Hans, (1) Dissert., Zürich 1903. ***Hess,** Otto, (1) Dissert., Marburg 1898. ***Hesse,** W., (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt, 1884, Bd. 2, S. 182. ***van Hest,** J. J., (1)

Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 16, S. 435. ***Hiltner,** Lorenz, (1) Arb. a. d. Biol. Abt. i. Kais. Ges.-Amt, 1900, Bd. 3, S. 9. ***Hofstädter,** Erich, (1) Arch. f. Hyg., 1905, Bd. 53, S. 205. ***Jacobitz,** (1) Z. f. Hyg., 1901, Bd. 37, S. 70. ***Kausch,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1904, Bd. 34, Ref., S. 673. ***van Ketel,** B. A., (1) Nederl. Tijdschr. Pharm., 1896, Bd. 8, S. 155. ***Kitasato,** (1) Z. f. Hyg., 1888, Bd. 3, S. 404. ***Knoesel,** Chr., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 241. ***Koch,** R., (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1, S. 33. — (2) Ebenda, S. 252. ***Koch,** R., **Gaffky und Loeffler,** (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1, S. 322. ***Koch** und **Wolffhügel,** (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1, S. 301. ***Korschelt,** O., (1) Dinglers Journ., 1878, Bd. 230, S. 76. ***Kurpjuwelt,** (1) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 43, S. 369. ***Lange,** L., (1) Arch. f. Hyg., 1901, Bd. 40, S. 143. ***Laws,** J. Parry, (1) Journal of Physiology, 1895, Bd. 17, Nr. 5; Chemical News, 1895, Bd. 71, S. 15. ***Lemaire,** J., (1) De l'acide phénique, de son action sur les végétaux, les animaux, les ferments etc. 2ième édition. Paris 1865. ***Leube,** W., (1) Virchows Archiv, 1885, Bd. 100, S. 540. ***Linossier,** G., (1) Ann. Pasteur, 1891, Bd. 5, S. 171. ***Lode,** (1) Arch. f. Hyg., 1895, Bd. 24, S. 236. ***Loew,** Oskar, (1) Ref. in Chem. Centralbl., 1889, Bd. I, S. 90. ***Martin,** C. J., (1) Journal of Physiology, 1896, Bd. 20, S. 364. ***Mason,** G. F., (1) Journ. Americ. Chem. Soc., 1905, Bd. 27, S. 613. ***Mazé,** P., (1) Ann. Pasteur, 1903, Bd. 17, S. 11. ***Miquel,** P., (1) Ann. de microgr., 1895, Bd. 7, S. 103. — (2) Les organismes vivants de l'atmosphère. 1883. — (3) Annuaire de l'observatoire de Montsouris, 1882 u. f. — (4) Cit. n. Kolle und Wassermann, Handbuch d. path. Mikroorganismen, Bd. 1, S. 519. — (5) Ann. de microgr., 1894, Bd. 6, S. 321. ***Miquel,** P., und **Lattraye,** L., (1) Ann. de microgr., 1895, Bd. 7, S. 110. ***Müller-Thurgau,** H., (1) Weinbau und Weinhandel, 1899, Bd 17, S. 244. — (2) Die Herstellung unvergorener und alkoholfreier Obst- und Traubenweine. Frauenfeld 1905. ***Nordtmeyer,** H., (1) Z. f. Hyg., 1891, Bd. 10, S. 145. ***Nonrry,** Cl., und **Michel,** C., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1892, Bd. 115, S. 959. ***Oberdörffer,** H., J., (1) Dissert., Bonn 1889; Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 7, S. 350. ***Ohlmüller,** (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1892, Bd. 8, S. 228. ***Ohlmüller** und **Prall,** Fr., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1902, Bd. 18, S. 417. ***Pasteur,** L., (1) Ann. de chim. et de phys., 1862, 3. sér., Bd. 64, S. 5. — (2) Études sur les vins etc. Paris 1866. ***Pasteur** und **Chamberland,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1884, Bd. 99, S. 247. ***Pawlowsky,** A., und **Gladin,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1895, Bd. 18, S. 170. ***Petri,** (1) Z. f. Hyg., 1887, Bd. 3, S. 1. ***Pfuhl,** E., (1) Festschrift z. 60. Geburtstag v. R. Koch. Jena 1903. — (2) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 6, S. 97; Bd. 7, S. 363. ***Proskauer** und **Schüder,** (1) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 42, S. 292. ***Ransome,** Arthur, und **Foulerton,** Alex. G. R., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt, 1901, Bd. 29, S. 900. ***Rapp,** R., (1) Arch. f. Hyg., 1903, Bd. 47, S. 291. ***Rechter,** J. de, und **Legros,** (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1894, Bd. 29, S. 236. ***Rolly,** (1) Arch. f. Hyg., 1902, Bd. 41, S. 348. ***Rosam,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 739. ***Rothenbach,** F., (1) Z. f. Spiritusindustrie, 1896, Bd. 19, S. 327. ***Rubner,** Max, (1) Hyg. Rundsch., 1899, Bd. 9, S. 328. — (2) Ebenda, 1898, Bd. 8, S. 776. — (3) Arch. f. Hyg., 1906, Bd. 56, S. 209. ***Sames,** Th., (1) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 33, S. 313. ***Scheele,** Karl Wilhelm, (1) Kongl. Vetenskaps Academiens nya Handlingar, 1782, Bd. 3, S. 120. ***Schilow,** P., (1) Pharmac. Zeitsch. f. Rußland, 1894, Bd. 33, S. 99. ***Schott,** A., (1) Zeitsch. d. Vereins f. Rübenzucker-Industrie, 1900, S. 434. ***Schüder,** (1) Z. f. Hyg., 1902, Bd. 39, S. 379 u. 532; Bd. 40, S. 196. ***Schumburg,** (1) Z. f. Hyg., 1902, Bd. 41, S. 167. — (2) Deutsche med. Wochenschr., 1897, Bd. 23, S. 145. — (3) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 45, S. 125. ***Schut,** J., jr., (1) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 44, S. 323. ***Seifert,** W., (1) Oesterr. Chem.-Ztg., 1899, Bd. 1, S. 413. ***Seige,** (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1902, Bd. 18, S. 362. ***Sénéquier** und **le Baron,** (1) Revue générale de Chimie pure et appliquée, 1905, Bd. 8, Nr. 13; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 15, S. 662. ***Seufferheld,** C., (1) Mitt. ü. Weinbau u. Kellerwirtschaft, 1903, S. 23; ref. in Kochs Jahresb., 1903, Bd. 14, S. 260. ***Seybold,** Carl, (1) Z. f. Hyg., 1898, Bd. 29, S. 377. ***Siedler,** Paul, (1) Apotheker-Ztg., 1895, Bd. 10, S. 788. ***Silberschmidt,** W., (1) Münch. med. Wochenschr., 1902, S. 1461. ***Sonntag,** Hermann, (1) Z. f. Hyg., 1890, Bd. 8, S. 95. ***Stahl,** J., (1) Pharmaz. Zeitg., 1893, Bd. 38, S. 173. ***Steinmetz,** C., (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 677. ***Stettner,** Th., (1) Süddeutsche Bauzeitg., 1892, Nr. 60, und Z. f. d. ges. Brauwesen 1893, Bd. 16, S. 6. ***Steuber,** L., (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1896, Bd. 19, S. 41. — (2) Ebenda, 1897, Bd. 20, S. 253. ***Straus** und **Würtz,** (1) Ann. Pasteur, 1888, Bd. 2, S. 171. ***Tiegel,** (1) Correspondenzbl. f. schweiz. Aerzte, 1871, S. 275. ***Traube,** (1) Revue d'Hygiène et de Police sanitaire, 1894, Bd. 16, S. 547. ***Trillat, A.,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1892, Bd. 114, S. 1278; Bd. 115, S. 290. — (2) Ebenda, 1893, Bd. 116, S. 891. ***Vergnette-Lamotte, de,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1865, Bd. 60, S. 895; 1869, Bd. 69, S. 693, 801 u. 1048. ***Vogel,** J. H., (1) Z. f. Hyg., 1895, Bd. 19, S. 291. ***van Voos,** A. J. Heerma, (1) Zeitsch. d. Vereins f. Rübenzucker-Industrie, 1900, S. 438. ***Wehmer,** C., (1) Chem.-Ztg., 1899, Bd. 23, S. 163. ***Wallerstein, M.,** (1) Allgem.

Brauer- u. Hopfenzeitg., 1905, Bd. 45, Nr. 4. ***Weil,** R., (1) Arch. f. Hyg., 1901, Bd. 39, S. 205. ***Wesenberg,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt, 1902, Bd. 8. S. 627. ***Will,** H., (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1893, Bd. 16, S. 151 u. 411; 1894, Bd. 17, S. 43. — (2) Ebenda, 1892, Bd. 15, S. 77. — (3) Ebenda, 1905, Bd. 28, S. 330. ***Windisch,** W., (1) W. f. Brauerei, 1900, Bd. 17, S. 91. — (2) Ebenda, 1894, Bd. 11, S. 1531. ***Wirgin,** Germund, (1) Z. f. Hyg., 1902, Bd. 40, S. 307; 1904, Bd. 46, S. 149. ***Wollny,** R., (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 11, S. 752. ***Wolffhügel,** G., (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1, S. 1888. ***Wood-Smith,** F., (1) J. federated Inst. Brewing, 1900, Bd. 6, S. 170. ***Wróblewski,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1895, Bd. 1, S. 417. ***Wyssokowitsch,** (1) Mitt. aus Dr. Bremers Heilanst. f. Lungenkranke in Görbersdorf. Wiesbaden 1890; ref. in Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 662. ***Zikes,** Heinrich, (1) Mitt. d. Oesterr. Versuchst. f. Brauindustrie, 1903, S. 10; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 292.

22. Kapitel.

(*Manuskript-Einlauf: 6. Okt. 1906.*)

Verfahren zur Züchtung aerober Kleinwesen.

Von Prof. Dr. R. Burri.

§ 123. Wesen und Bedeutung der Reinzucht.

Als Reinzucht bezeichnet man in der Mikrobiologie eine Gesellschaft oder Ansammlung von Mikroorganismen, die ein und derselben Art, bezw. ein und derselben Rasse angehören und somit voneinander nicht unterschieden werden können. Wenn solche einheitlich zusammengesetzte Ansammlungen von Kleinwesen im allgemeinen die Nachkommenschaft einer Zelle darstellen, so ist die Abstammung aus einer einzigen Zelle doch nicht als unbedingtes Kriterium der Reinzucht zu betrachten. Auf experimentellem ebenso wie auf natürlichem Wege kann es unter ursprünglicher Beteiligung mehrerer gleichartiger Zellen bei deren Vermehrung zu Ansammlungen kommen, denen der Charakter der Reinzucht nicht abzusprechen ist.

Handelt es sich aber um die Aufgabe, Reinzuchten herzustellen, sei es zu dem Zweck, ein unbekanntes Gemisch von Keimen in seine einzelnen Bestandteile zu zerlegen, oder einen bestimmten Organismus von anhaftenden Begleitern zu befreien, dann müssen unsere Maßnahmen immer darauf gerichtet sein, derart eine räumliche Trennung der Keime vorzunehmen, daß jeder von ihnen, ungestört und unbeeinflußt durch die übrigen, sich entwickeln und vermehren kann. So einfach diese Forderung lautet, so schwierig ist sie in Wirklichkeit zu erfüllen. Wegen der außerordentlich geringen Ausmaße der Mikroorganismen ist es nur bei den größeren, nämlich bei den Sproß- und Schimmelpilzen, möglich, die Entwicklung und Vermehrung einer Zelle mit der nötigen Schärfe ohne besondere Schwierigkeit zu verfolgen. Auf dieser Möglichkeit beruhen die als Einzell-Kultur bezeichneten Reinzüchtungsverfahren, über welche auf S. 107 u. f. des Vierten Bandes Näheres enthalten ist. Bei den Bakterien, deren Isolierung und Züchtung in den folgenden Paragraphen behandelt wird, verzichtet man aus dem genannten Grunde in der Regel auf den erwähnten sichern Ausgangspunkt. Dieser bildet zwar die Voraussetzung aller Isolierungsmethoden, aber der Mangel einer mikroskopischen Kontrolle läßt in jedem einzelnen Fall den Zweifel zu, ob die Voraussetzung wirklich zugetroffen hat. In Berücksichtigung

dieser Unsicherheit ist es unerläßlich, eine jede Reinzucht, die nicht nachweislich aus einer einzigen Zelle hervorgegangen ist, nachträglich und unter Umständen sogar wiederholt durch die uns zu Gebote stehenden Mittel auf ihre Reinheit zu prüfen. Sehr beachtenswert ist übrigens 5 ein in neuerer Zeit von S. L. Schouten (1) angegebenes Verfahren, welches ermöglicht, auch bei kleinsten Organismen die Isolierung einzelner Zellen unter mikroskopischer Kontrolle vorzunehmen. Die hierbei notwendige Beförderung des einzelnen Keims aus der keimhaltigen Aufschwemmung in ein daneben befindliches Tröpfchen steriler Nährlösung 10 wird mit Hilfe einer besonderen Vorrichtung durch feine Glasnadeln ausgeführt.

Wie die Kleinheit der Mikroorganismen eine direkte, von einer bestimmten Zelle ausgehende Verfolgung des morphologischen Entwicklungsganges erschwert, so macht sie es vollends unmöglich, am einzelnen 15 Individuum Versuche über seine vielseitige Tätigkeit anzustellen. Die den Gärungsphysiologen wie den Mediziner in erster Linie interessierenden chemischen Leistungen der Zelle spielen sich in so ungeheuer kleinen Verhältnissen ab, daß eine qualitative, geschweige denn eine quantitative Untersuchung der auftretenden Umsetzungsprodukte vollständig ausge- 20 schlossen ist. Wir bedürfen für solche Untersuchungen einer Vielheit von Zellen, welche die Leistungen der einzelnen summiert, in gewissem Sinne vergrößert, unserer Beobachtung und Untersuchung zugänglich macht. Diese Vorteile bietet uns eben die Reinzucht, und darin beruht ihre fundamentale Bedeutung, daß wir sie an Stelle der einzelnen Zelle 25 setzen und verwenden können. Wir arbeiten mit der Reinzucht genau so wie mit einem makroskopischen Organismus, und die Vorstellung, daß man es mit einem solchen und nicht mit einer Ansammlung gleichartiger mikroskopisch kleiner Wesen zu tun hat, ist uns so geläufig, daß wir vielfach bei Nennung der Eigenschaften eines Mikroben unbedenklich 30 solche der Reinkultur mit anführen, ohne auf den betreffenden Unterschied besonders aufmerksam zu machen.

Durch diese Ausführungen wird die allgemeine Bedeutung der Reinzucht für die mikrobiologischen Wissenschaften wohl genügend gekennzeichnet sein. Ein fruchtbringendes Studium der ein- 35 zelnen Arten der Mikroorganismen ist nur auf der sicheren Grundlage denkbar, welche in der Reinzucht gegeben ist. Damit ist auch ausgesprochen, welch hervorragende Bedeutung für die gesamte Entwicklung der genannten Wissenschaften jenen Methoden zukommen muß, welche die Gewinnung von Reinzuchten zum Ziele haben. 40 So lange diese Methoden mit Fehlern behaftet und überdies noch schwierig zu handhaben waren, konnte ein Fortschritt in Gärungsphysiologie, Bakteriologie und verwandten Gebieten nur langsam zustande kommen. Irrtümliche Schlüsse, aufgebaut auf Versuchsresultaten, die nach unzulänglichen Verfahren gewonnen waren, vermochten sogar zeitweise einen 45 Stillstand, ja einen Rückschritt herbeizuführen. Sobald aber die Wege vorgezeichnet waren, welche es erlaubten, mit einfachen Mitteln in zuverlässiger Weise ein Keimgemisch in seine Elemente zu zerlegen, mußte ein mächtiger Aufschwung aller beteiligten Wissensgebiete mit Rückwirkung auf die verschiedensten Zweige der Praxis unausbleiblich sein. 50 In das überaus große Verdienst, solche Reinzüchtungsmethoden geschaffen und eingeführt zu haben, teilen sich E. Chr. Hansen und Robert Koch; vergl. Bd. IV, S. 108.

Die in den folgenden Paragraphen gemachten Ausführungen, welche

die Reinzüchtung aerober Kleinwesen unter Voranstellung der Bakterien zum Gegenstand haben, können, bei dem beschränkten Raume, nur eine in den Rahmen des Ganzen sich einfügende Zusammenfassung des in den Ueberschriften bezeichneten Stoffes unter Betonung der leitenden Grundsätze geben und wollen keineswegs die über Methodik handelnden 5 Werke ersetzen. Auf die letzteren, insbesondere jene von HUEPPE (1), P. LINDNER (1), KLÖCKER (1), MEZ (1), HEIM (1), LEHMANN und NEUMANN (1), sei daher in betreff aller hier vermißten Einzelheiten verwiesen.

§ 124. Flüssige Nährböden.

Da die LIEBIG'sche Theorie in dem Zerfall der Eiweißverbindungen 10 das eigentlich Treibende der Gärungsvorgänge sah, so ließ es sich PASTEUR, der eifrige Bekämpfer dieser Lehre, angelegen sein, Nährböden künstlich zusammenzustellen, die frei sind von Eiweißverbindungen (s. Bd. IV, S. 97) und dennoch in Gärung geraten, wenn sie mit einer winzigen Menge von Gärungsorganismen (z. B. einer Spur Hefe) beimpft 15 werden. Die älteste dieser Flüssigkeiten, gewöhnlich als PASTEUR'sche Nährlösung bezeichnet, besteht aus: 100 g Wasser, 1 g weinsaur. Ammon, 10 g Rohrzucker, 0,075 g Hefenasche (entspr. 1 g Hefe). Diese Nährlösung war vorzüglich für Züchtung von höheren Pilzen bestimmt. Deren Tauglichkeit für Bakterienzuchten ist von COHN geprüft worden, wobei 20 sich ergeben hat, daß der Zucker hier entbehrlich sei. Auf Grund von Studien über den Bedarf der Bierhefe an Mineralstoffen schlug ADOLF MAYER (1) vor, anstatt der schwer löslichen Hefenasche eine künstlich bereitete Lösung der Salze zu verwenden, aus denen diese Asche erfahrungsgemäß besteht. 25

Diesen Rat benützend, stellte dann FERD. COHN (1) eine Nährlösung her, die er als normale Bakterienflüssigkeit bezeichnete und welche folgende Zusammensetzung hatte: 100 g Wasser, 0,5 g saures phosphorsaures Kali (KH_2PO_4), 0,05 g dreibasisch phosphorsaurer Kalk ($Ca_3P_2O_8$), 0,5 g kristall. schwefelsaure Magnesia, 1 g weinsaures Ammon. 30

Ein ähnlich zusammengesetztes, jedoch kalkfreies Gemisch (vergl. Bd. IV, S. 87) hat E. LAURENT (1) bei seinen Hefenernährungsversuchen als Grundlösung benutzt, nämlich: 1 l Wasser, 0,75 g phosphorsaures Kali, 5 g phosphorsaures oder schwefelsaures Ammon, 0,1 g schwefelsaure Magnesia, 1 g Weinsäure. 35

Die von HAYDUCK (1) angegebene Nährlösung, die gelegentlich als Zusatz bei Gärungsversuchen mit Hefe verwendet wird, ist durch ihren Gehalt an Asparagin (vergl. Bd. IV, S. 101) gekennzeichnet und hat folgende Zusammensetzung: 1 l Wasser, 25 g Monokaliumphosphat, 8,5 g Magnesiumsulfat, 29 g Asparagin. 40

Sich stützend auf die Ergebnisse seiner Versuche über die zur Ernährung der niederen Pilze tauglichen Substanzen, stellte NÄGELI (1) drei „Normalflüssigkeiten für Spaltpilze" auf, von denen eine die folgende Zusammensetzung hat: 100 g Wasser, 0,1 g Dikaliumphosphat (K_2HPO_4), 0,02 g kristall. Magnesiumsulfat, 0,01 g Chlorcalcium, 1,00 g weinsaures 45 Ammon.

Die bisher aufgeführten Nährlösungen spielen in der älteren mykologischen Literatur eine große Rolle, und mit Rücksicht darauf ist ihre Zusammensetzung hier mitgeteilt worden. Heutzutage bedient man sich ihrer nur noch selten; denn mit der Kenntnis der weitgehenden Ver- 50

schiedenheiten, welche die Mikroorganismen in ihren Ansprüchen an die Ernährung bekunden, mußte das Suchen nach Normalnährlösungen mehr und mehr als aussichtsloses Beginnen erscheinen; vergl. hierzu das 13. Kapitel dieses, sowie das 3. und 4. Kapitel des Vierten Bandes. Die letzgenannte NÄGELI'sche Flüssigkeit entspricht übrigens nach Weglassung des weinsauren Ammons einer Zusammensetzung, wie sie gewöhnlich die „mineralische Grundlösung" oder „Mineralsalzlösung" neuerer Autoren aufweist.

Recht häufig gebraucht man auch jetzt noch eine zweite der von PASTEUR angegebenen Nährlösungen, nämlich das *Hefenwasser*. Um es darzustellen, verteilt man ungefähr 100 g dickbreiige Bierhefe (oder 75 g stärkefreie Preßhefe) in einem Blechtopfe in einem Liter Wasser, stellt aufs Feuer und kocht eine Viertelstunde. Man filtriert hierauf durch ein Faltenfilter, nötigenfalls mehrmals, und erhält so ein klares, schwach gelbliches Filtrat, das man durch Zusatz von destilliertem Wasser zu einem Liter auffüllt und dann, entweder im ganzen oder auf einzelne Gefäße verteilt, an drei aufeinander folgenden Tagen im Dampftopf bei 100 ° C oder einmal durch 20 Minuten im Drucktopf bei 120 ° C sterilisiert. Setzt man zuvor noch 5—10 Proz. Zucker hinzu, dann erhält man einen vorzüglichen Nährboden für Hefen. Mit Essigsäure angesäuert und mit Alkohol versetzt, hat das Hefenwasser bei den Studien PASTEUR's über die Essigsäuregärung gute Dienste geleistet. Ueber die Verwendung von gewöhnlichem und durch Ammoniakzusatz alkalisch gemachtem Hefenwasser zur Nachweisung von Sarcinen vergl. man Bd. V, S. 187 u. 229.

Für die Züchtung von Bierhefen ist die *gehopfte Bierwürze* am tauglichsten. Das in dieser Flüssigkeit enthaltene Hopfenharz (s. Bd. IV, S. 138) ist allerdings für viele Organismen ein Gift, so z. B. auch für die in der Brennerei eine wichtige Rolle spielenden Milchsäurebakterien. Für die letzteren und andere empfindliche Organismen kann man anstatt der gehopften die ungehopfte Würze benutzen, welche für sehr viele Gärungsorganismen, wie auch für die Mehrzahl der Schimmelpilze ein vortrefflicher Nährboden ist.

Traubenmost dient zur künstlichen Vermehrung der Weinhefen und Obsthefen. Man hält ihn im Laboratorium in eingedicktem Zustande (s. Bd. V, S. 70—71) vorrätig, oder man verschafft sich zur Zeit der Weinlese frischen Traubensaft und pasteurisiert einen genügenden Vorrat in Flaschen.

Die meisten Bakterien, so alle fäulniserregenden und auch die meisten pathogenen, gedeihen besonders gut in Fleischsaft. Man verwendet ihn in Form sogen. *Nährbouillon*. Deren Bereitung geschieht nach PETRI und MAASSEN (1) wie folgt: Ein halbes Kilogramm frisches, fettfreies, fein gehacktes Ochsenfleisch wird in einem Blechtopfe oder in einem irdenen Hafen mit einem Liter Brunnenwasser versetzt und dann 1 Stunde bei gewöhnlicher Temperatur, darauf 3 Stunden bei ungefähr 60 ° gehalten und öfters aufgerührt. Nach Ablauf dieser Auslaugezeit wird das Gemisch eine halbe Stunde lang gekocht und hierauf durch ein Faltenfilter filtriert. Die ablaufende blaßgelbliche Flüssigkeit wird nach dem Erkalten auf ein Liter aufgefüllt. Dieses Fleischwasser reagiert amphoter. Dank seinem Gehalt an primären Salzen der Orthophosphorsäure (KH_2PO_4) rötet es blaues Lakmuspapier, während hingegen die ebenfalls anwesenden sekundären Phosphate (K_2HPO_4) das gegenteilige Verhalten bedingen. Auf Phenolphtalein jedoch wirkt erst das

tertiäre Phosphat (K_3PO_4) als Base. Es reagiert also der Fleischauszug sauer sowohl gegen blaues Lackmus als auch gegen Phenolphtalein. In der Regel bedürfen 10 ccm dieser Brühe eines Zusatzes von 1,8 ccm Zehntel-Normallauge, um blaues Lackmus nicht mehr zu röten, und einen Zusatz von 3 ccm, um Phenolphtalein eben zu röten. Die saure Reaktion 5 des Fleischwassers ist vielen Bakterien hinderlich, man macht es aus diesem Grunde schwach alkalisch. Während man anfänglich diese alkalische Reaktion auf den Indikator Lackmus bezog, ist man später dazu übergegangen, höhere Mengen von Alkali zuzusetzen. REINSCH (1), DAHMEN (1) und andere hatten (vergl. Bd. III, S. 337) darauf aufmerksam 10 gemacht, daß auf mit Fleischwasser hergestellten festen Nährböden, wenigstens bei Wasseranalysen, die meisten Bakterien bei einem Gehalt an Alkali zum Wachstum gelangen, der vom Lackmus-Neutralisationspunkt ziemlich weit entfernt ist, und LEHMANN und NEUMANN geben in ihrem Lehrbuch den Rat, die Nährböden im allgemeinen bis zur 15 schwachen Rötung von Phenolphtalein zu neutralisieren. Eine so neutralisierte Bouillon erweist sich gegenüber Lackmus allerdings als stark alkalisch, und es hat diese Art der Neutralisierung auch nicht allseitige Zustimmung gefunden. Einen Mittelweg kann man beschreiten, indem man die Bouillon so weit mit Alkali (in Form von Natronlauge) versetzt, 20 bis gelbes Curcuma-Papier eine schwache Bräunung zeigt. Der Neutralisationspunkt für Curcuma ist zwischen demjenigen für Lackmus und dem für Phenolphtalein gelegen, jedoch näher bei letzterem als bei ersterem. Ein auf Curcuma neutralisierter Nährboden reagiert auf Lackmus kräftig alkalisch, auf Phenolphtalein sauer. Vor der Schablone 25 ist übrigens bei dieser Gelegenheit zu warnen. Im Gegensatz zur großen Mehrzahl der Mikroorganismen zeigen sich einzelne Gruppen und Arten in so ausgesprochenem Maße von der Reaktion des Nährbodens abhängig, daß im einzelnen Fall das Geeignete erst auf empirischem Wege gesucht werden muß. In dieser Hinsicht seien die Ausführungen auf 30 S. 375—376 nachdrücklich der Berücksichtigung empfohlen. Nach dem Neutralisieren setzt man der Flüssigkeit noch ein Prozent trockenes Pepton (meistens wird das WITTE'sche Präparat verwendet) und ein halbes Prozent Kochsalz zu, kocht dann abermals eine Viertelstunde und filtriert heiß. Ueber Peptonpräparate im allgemeinen vergl. man die 35 Angaben auf S. 370, über Pepton WITTE die auf S. 361. Man füllt die Flüssigkeit in kleinere Gefäße (z. B. zu 5—10 ccm in Reagensgläser) und sterilisiert entweder dreimal im Dampftopf oder einmal im Drucktopf.

Unter Umständen verwendet man an Stelle des Fleisches den billigeren Fleischextrakt. Die von HUEPPE gegebene Vorschrift 40 zur Bereitung der Fleischextraktbouillon lautet: 30 g trockenes Pepton, 5 g Traubenzucker und 5 g Fleischextrakt werden in einem Liter Wasser aufgelöst, aufgekocht, filtriert und dann neutralisiert. Das Sterilisieren wird am besten im Drucktopf vorgenommen; denn das Fleischextrakt ist reich an zählebigen Bakteriensporen. Will eine nach 45 dieser oder der vorhergegebenen Vorschrift angefertigte Bouillon nicht klar filtrieren, was zwar bei Neutralisierung auf Curcuma oder Phenolphtalein kaum vorkommen dürfte, so setze man das zu Schnee geschlagene Eiweiß eines Eies zu, erwärme bis zum Kochen, filtriere, und die Flüssigkeit wird jetzt blank ablaufen. Die einfache Herstellung 50 und Verwendung der Pepton-Fleischbrühe hatten ihr schnell den Rang eines Universalnährbodens verschafft, und dieser Umstand ließ vielfach, unter Nichtberücksichtigung der Ergebnisse älterer Forschungen (vergl.

S. 372), die Annahme aufkommen, als seien die in genannter Flüssigkeit vorhandenen komplizierten Stickstoffverbindungen zur Ernährung der Kleinwesen, besonders der Bakterien, überhaupt notwendig. Im Jahre 1893 hat nun USCHINSKY (1) gezeigt, daß auch die meisten pathogenen Bakterien in einer Flüssigkeit sich züchten lassen, welche als Stickstoffnahrung ausschließlich milchsaures Ammon und asparaginsaures Natrium zu bieten vermag. Solche eiweißfreie Nährlösungen scheinen für das Studium der von den Bakterien ausgeschiedenen Giftstoffe besonders tauglich zu sein; denn die Abscheidung der letzteren, die vielleicht selber den Eiweißstoffen nahestehen, muß bei Abwesenheit des gewöhnlich als Nährstoff gereichten Eiweißes leichter sein. Ueber diesen Gegenstand haben außer BRIEGER und seinen Mitarbeitern (s. Bd. III, S. 113) insbesondere SCHWEINITZ (1), PROSKAUER und BECK (1), C. FRAENKEL (1) und VOGES und PROSKAUER (1) Studien angestellt. Letztere haben folgenden, sehr einfach zusammengesetzten Nährboden benutzt: Wasser 1 l, Kochsalz 5 g, neutrales Natriumphosphat 2 g, milchsaures Ammoniak 6 g, Asparagin 4 g. Es ist nicht zu verkennen, daß auch für die landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie die Verwendung eiweißfreier Nährlösungen ihre Berechtigung hat und an Stelle der Nährbouillon oder Zuckerbouillon in vielen Fällen besser als diese zum Studium gärungsphysiologischer Fragen dienen würde. Die Vorteile solcher Nährböden sind in der leicht zu erzielenden Konstanz der Zusammensetzung und damit in der Möglichkeit zu erblicken, daß infolge der genauen Kenntnis der Bestandteile des Nährbodens Fragen, welche den Mechanismus des Stoffwechsels betreffen, auf einer zuverlässigeren Grundlage ihrer Lösung entgegengeführt werden können, als dies unter Verwendung eines Nährbodens, der selbst ein Gemisch von zum Teil unbekannten Substanzen darstellt, möglich wäre. In betreff der Technik solcher Versuche ist im übrigen auf S. 370 u. f. zu verweisen, wo auch die Bedeutung der Dissoziationsverhältnisse in Salzlösungen und Gemischen von solchen ihre gebührende Würdigung gefunden hat. Bemerkenswert ist an und für sich die Tatsache, daß die Bakterien, welche in eiweißfreien Nährlösungen kräftig gedeihen, in ausgesprochener Weise zur Eiweißsynthese befähigt sind, um so bemerkenswerter, als es sich zum größeren Teil um Arten handelt, die in Nährlösungen, welche Eiweiß enthalten, das letztere unter weitgehenden Spaltungen energisch zerlegen.

In neuerer Zeit hat sich das Gebiet der Anwendung flüssiger Nährböden dadurch erweitert, daß einige Autoren mit Nachdruck die Notwendigkeit betont haben, beim Studium der Bakterien, namentlich für diagnostische Zwecke, mehr als bisher die Ansprüche zu berücksichtigen, welche die einzelnen Arten bei der Ernährung an die Form der Stickstoff- und Kohlenstoffquellen machen. So hat A. FISCHER (1) gezeigt, wie auf einfache Weise Aufschluß über diese Verhältnisse zu gewinnen ist, wenn man die einzelnen Arten in Nährlösungen kultiviert, welche als konstanten Bestandteil die mindestens nötigen Mineralstoffe enthalten, während die einzelnen Lösungen sich durch variierende Form der Stickstoff- und Kohlenstoffquellen unterscheiden. Als Grundlösung der „nötigen Salze" verwendete der genannte Forscher 0,1 Proz. Dikaliumphosphat, 0,02 Proz. Magnesiumsulfat und 0,01 Proz. Chlorcalcium in [illegible] wasser. Zu dieser Lösung kamen nun in der Menge von je
im ersten Fall Pepton und Rohrzucker, im zweiten Fall P
im dritten Fall Pepton und Kalisalpeter, im vierten Fall

Rohrzucker usw. Im ganzen sind acht Nährlösungstypen zur Anwendung gelangt. Das Verhalten einer ausgewählten Reihe von auf gewöhnlichen Nährböden züchtbaren Bakterien gegenüber den einzelnen Gliedern dieses „Nährlösungssystems“ gestattete bezüglich des Anspruchs an die Form der Stickstoffquelle eine ziemlich scharfe Trennung in Gruppen vorzunehmen, die von Fischer als Peptonbakterien, Amidobakterien, Ammonbakterien und Nitrobakterien (nicht zu verwechseln mit nitrifizierenden!) bezeichnet worden sind; vergl. auch S. 401.

Die Zusammensetzung der Nährlösungen kann selbstverständlich bei der großen Zahl der als Nährstoffe in Betracht kommenden Verbindungen in weitgehender Weise abgeändert werden. Doch wird man sich aus praktischen Gründen auf eine nicht zu große Zahl beschränken und bei der Auswahl vor allem eine gewisse Planmäßigkeit zu befolgen haben. Eine große Zahl von gut kontrollierbaren, konstanten Nährlösungen neben solchen, die wegen des Gehaltes an unbestimmten Nährsubstanzen (Pepton und Fleischextrakt) nicht genau kontrollierbar sind, hat Arthur Meyer (1) zusammengestellt. Unter den ersteren befindet sich auch die von Raulin (1) angegebene Flüssigkeit, die in der französischen mykologischen Literatur eine gewisse Rolle (s. S. 195 u. 323) spielt, sich aber der komplizierten Zusammensetzung wegen, die hier mitgeteilt sein möge, wenig empfiehlt: Wasser 1500 g, Rohrzucker 70,00 g, Weinsäure 4,00 g, Ammoniumnitrat 4,00 g, Ammoniumphosphat 0,60 g, Kaliumkarbonat 0,60 g, Magnesiumkarbonat 0,40 g, Ammoniumsulfat 0,25 g, Zinksulfat 0,07 g, Eisensulfat 0,07 g, Kaliumsilikat 0,07 g.

Welch großer Wert in neuerer Zeit dem Verhalten der Bakterien in Nährlösungen beigelegt wird, zeigt eine beachtenswerte Studie über einige sporenbildende Bodenbakterien von Gottheil (1), welcher die einzelnen Arten im Sinne von Arthur Meyer (1) auf ihr Verhalten in nicht weniger als 16 verschiedenen Nährlösungen prüfte. In derselben Richtung liegen Arbeiten von E. Neide (1) und von O. Blau (1).

Mit den im vorliegenden Paragraphen genauer beschriebenen oder mehr andeutungsweise erwähnten flüssigen Nährböden ist die Zahl der wirklich in Gebrauch befindlichen nicht erschöpft. Insbesondere wären noch einige Flüssigkeiten pflanzlicher oder tierischer Herkunft zu erwähnen, die zum Teil eine recht bedeutende Rolle spielen, so Abkochungen von Pflaumen u. dergl., von Heu, von Mist und von Erde, ferner Harn und besonders Milch, bezw. Magermilch und Molken. Angaben über deren Zubereitung und Anwendungsweise müssen aus den auf S. 553 erwähnten methodologischen Werken entnommen werden, zum Teil sind solche auch an verschiedenen Stellen dieses Handbuchs zu finden, so z. B. auf S. 88—90 des Zweiten Bandes, wo die für die Züchtung der Milchsäurebakterien geeignetsten Nährböden besprochen sind.

Im allgemeinen und besonders dann, wenn es sich um Isolierung noch nicht bekannter Arten handelt, wird man mit Vorteil dem Grundsatze huldigen, womöglich mit solchen Nährflüssigkeiten zu arbeiten, welche dem rein zu züchtenden Gärungserreger die gewohnten natürlichen Bedingungen vollständig ersetzen. Aus diesem Grunde muß von Fall zu Fall die Frage der geeignetsten Nährlösung von neuem gestellt und entschieden werden. Sie gewinnt besonders dann ausschlaggebende Bedeutung, wenn es sich um [illegible] Anreicherung (s. S. 560 u. f.) einer [illegible] nur spärlich vertretenen Keim-

§ 125. Die Verdünnungsmethode.

Da die ersten Beobachtungen über Mikroorganismen gelegentlich der mikroskopischen Untersuchung von Flüssigkeiten gemacht worden sind und auch in der Folge alle Erfahrungen dafür sprachen, daß die 5 meisten der Kleinwesen sich in Flüssigkeiten oder wenigstens in stark wasserhaltigen Nährböden vorzüglich entwickeln, so ist es selbstverständlich, daß die anfänglichen auf Erzielung von Reinzuchten gerichteten Bestrebungen unter Benützung sterilisierter flüssiger Nährböden erfolgten. Ob ein in seine Elemente zu zerlegendes Keimgemisch in einer Flüssig- 10 keit oder in einem festen Körper (Käse, Butter, Erde usf.) enthalten ist, fällt übrigens bei der Lösung der Aufgabe nicht weiter in Betracht, denn der letztere Fall läßt sich mit Leichtigkeit auf den ersteren zurückführen, indem man sich durch Zerreiben einer Probe des festen Körpers in sterilem Wasser eine Aufschwemmung bereitet und diese 15 wie eine keimhaltige flüssige Probe weiter behandelt. Daß man in letzterem Falle jedoch ab und zu mit großer Umsicht zu verfahren hat, zeigt das auf S. 163—164 des Zweiten Bandes gegebene Beispiel der Keimgehaltsbestimmung im Käse.

Recht oft tritt an den Mykologen die Aufgabe heran, die Keimzahl 20 einer solchen Probe zu ermitteln, d. h. festzustellen, wieviel Zellindividuen sie in der Raumeinheit enthält. Besonders bei Gärversuchen mit Hefen wird man dazu oft Veranlassung haben, z. B. um aus dem Ergebnis der Keimzählung auf die Größe der während der Gärung eingetretenen Zellvermehrung rückschließen zu können. Aber auch bei 25 Lösung spezifisch bakteriologischer Fragen kann eine solche direkte Zählung von Nutzen sein, wenn auch gleich betont werden muß, daß hier im allgemeinen weniger die Kenntnis der absoluten Zahl der in der Volumeinheit einer Flüssigkeit vorhandenen Keime von Wichtigkeit ist, als vielmehr die Zahl der lebenden, bezw. entwicklungsfähigen 30 Keime. Eine direkte Zählung mit Hilfe des Mikroskopes läßt aber keine Unterscheidung zwischen lebenden und abgestorbenen Individuen zu; vergl. Bd. III, S. 417. Zu Zählungen der angedeuteten Art bedient man sich der sogen. Zählkammern, deren Einrichtung und Gebrauch auf S. 176 des Fünften Bandes erläutert ist.

35 Angenommen, die Ermittlung des Keimgehaltes in einem Organismengemisch, dessen Sonderung in die einzelnen Arten als Aufgabe vorliegt, sei erfolgt. Kennen wir die Anzahl der Zellen in der Raumeinheit, dann verdünnen wir einen Teil der Probe mit sterilisiertem Wasser so stark, daß eine Zelle erst auf je 2—5 Tropfen fällt. Von dieser Verdünnung 40 bringen wir nun je einen Tropfen in eine Anzahl von Gefäßen mit steriler Nährlösung. Diese hält man dann bei geeigneter Temperatur. Ein Teil der Kölbchen wird nach einiger Zeit Entwicklung erkennen lassen: in diesen liegen die gesuchten Reinkulturen vor, falls die Impftropfen, wie vorausgesetzt, höchstens einen Keim enthielten. Nach diesem 45 Verfahren, welches gewöhnlich als Verdünnungsmethode bezeichnet wird, hat LISTER im Jahre 1878 sein *Bacterium lactis* (s. Bd. II, S. 68) reingezüchtet. Auch FITZ (1) bediente sich desselben bei seinen Studien über Spaltpilzgärungen. Schon früher hatte BREFELD (1) einen ähnlichen Weg benützt, um zu Reinkulturen von Schimmelpilzen zu gelangen. Die 50 Größe der Zellen (Sporen) ermöglichte dabei auf mikroskopischem Wege eine direkte Entscheidung der Frage, ob die Zucht wirklich von einer einzigen Zelle aus sich entwickelt hatte. Die in der gärungsphysio-

logischen Literatur berühmt gewordenen ersten sechs Arten der von E. Chr. Hansen studierten Saccharomyceten sind gleichfalls mit Hilfe eines verbesserten Verdünnungsverfahrens gewonnen worden, über welches man auf S. 108 des Vierten Bandes nähere Angaben findet. In betreff des schädlichen Einflusses des Wassers beim Verdünnen vergleiche man S. 442.

Unbedingt zuverlässig ist die Verdünnungsmethode in ihrer älteren Form aus leicht einzusehenden Gründen nicht. Einmal ist die Möglichkeit vorhanden, daß das in einem der Gefäße eingetretene Organismenwachstum nicht durch Einführung eines, sondern zweier oder mehrerer Keime zustande gekommen ist. Sodann besteht die Aussicht, Reinzuchten zu gewinnen, nur für diejenigen Keime eines Gemisches, welche an Zahl die überwiegenden sind. Es wird daher im allgemeinen diese Methode nicht ohne weiteres für die Isolierung bestimmter Keime aus Flüssigkeiten anwendbar sein, sondern erst dann Aussicht auf Erfolg bieten, wenn durch geeignete Maßnahmen das prozentualische Verhältnis der einzelnen Arten des Gemisches sich im Sinne eines Vorherrschens der zu isolierenden Art gestaltet hat.

Zu den Mitteln und Wegen, welche der Erreichung des letzteren Zweckes dienen, gehört in erster Linie die elektive Kultur (vergl. S. 374 u. 560), welche auf der Möglichkeit beruht, daß in einem Gemisch von Keimen bestimmte Arten, die in untergeordneter Zahl oder auch nur vereinzelt vorhanden sind, zu ausgiebiger Vermehrung gelangen, wenn nur dafür gesorgt wird, daß sie unter Bedingungen gebracht werden, welche für ihre Entwicklung günstig und womöglich für die Entwicklung anderer Arten ungünstig sind. Das hierin ruhende Prinzip ist in neuerer Zeit in Verbindung mit einem Verdünnungsverfahren dazu benutzt worden, quantitative Ermittlungen über das Vorkommen solcher Bakterien anzustellen, die unter bestimmten Verhältnissen nicht oder überhaupt nicht auf den gewöhnlichen Nährböden zum Wachstum zu bringen sind. Wenn nämlich die Tätigkeit der betreffenden Bakterien sich auf leicht festzustellende Weise bemerkbar macht, z. B. durch Gasentwicklung oder durch Bildung anderer spezifischer Stoffwechselprodukte, so beschränkt sich die Aufgabe darauf, festzustellen, mit welcher geringsten Menge des zu prüfenden Materials in einer geeigneten Nährlösung unter Einhaltung der übrigen begünstigenden Bedingungen der für die Art charakteristische Prozeß hervorgerufen werden kann. Wenn z. B. bei der Aussaat von 0,0001 g Erde in ammoniumsulfathaltige sterile Nährlösung (nach Winogradsky) Nitritbildung erfolgt, solche aber bei Aussaat von nur 0,00005 g Erde ausbleibt, so hat die betreffende Erdprobe im Gramm mindestens 10000 Keime des Nitritbildners, nicht aber 20000 enthalten. Nach dem skizzierten Verfahren, das von L. Hiltner und K. Störmer (1) für das Studium der Bodenbakterien vorgeschlagen wurde, haben die Genannten wertvolle Aufschlüsse über den Gehalt verschiedener Böden an pektinvergärenden Bakterien erhalten. Leider scheint die Zuverlässigkeit des Verfahrens in dem Sinne eine sehr beschränkte zu sein, daß bei gewissen Bakterienarten auf die angegebene Weise vereinzelte Zellen wirklich zur Geltung gelangen, während bei anderen Arten trotz Schaffung günstigster Entwicklungsbedingungen nur dann eine ausgiebige Vermehrung erfolgt, wenn schon im Ausgangsmaterial die betreffenden Keime verhältnismäßig zahlreich waren. Eine Berechnung der Keimzahlen mittelst der Verdünnungsfaktoren müßte

also hier zu schweren Irrtümern Anlaß geben; vergl. hierüber auch Löhnis (1) und Bd. III, S. 439.

Im Prinzip verwandt mit dem soeben besprochenen Verfahren ist die sogen. Kölbchenzucht, wie sie zur biologischen Wasseranalyse verwendet und auf S. 347 des Dritten Bandes beschrieben wird. Auch hier handelt es sich weniger um eine Isolierung der einzelnen Keime zum Zwecke der Reinzüchtung, als vielmehr um eine besondere Form der Verdünnungsmethode, welche es ermöglicht, über die Häufigkeit und das gegenseitige Verhältnis bestimmter, insbesondere schädlicher Organismengruppen in dem untersuchten Wasser Aufschluß zu bekommen. Ueber die ähnlichen Zwecken dienende Tropfenkultur P. Lindner's vergl. man Bd. V, S. 174 u. 187.

§ 126. Die Anreicherungszucht und die fraktionierte Zucht.

Im vorhergehenden Paragraphen ist angedeutet worden, daß mit Hilfe der Verdünnungsmethode nur dann auf die Gewinnung der Reinzucht eines bestimmten Mikroorganismus gerechnet werden kann, wenn dieser in der als Ausgangsmaterial dienenden Flüssigkeit der Zahl nach die anderen Keime stark übertrifft. Es ist hier beizufügen, daß das überwiegende Vorkommen der in Reinzucht zu gewinnenden Keimart nicht nur für die erfolgreiche Anwendung der Verdünnungsmethode eine Grundbedingung ist, sondern auch für alle später noch zu besprechenden Reinzüchtungsverfahren große Vorteile in sich schließt, denn im allgemeinen gilt der Satz: je höher der Anteil ist, der in einem Keimgemisch auf eine bestimmte Art entfällt, um so kleiner und leichter ist bezüglich dieser Art der Schritt zur Reinzucht. Man hat die Verfahren, welche dazu dienen, die gekennzeichnete günstige Zusammensetzung in einem Mikroorganismengemisch herbeizuführen, als Anreicherungs- oder Anhäufungsverfahren (Beijerinck), wohl auch als elektive Kulturverfahren (Winogradsky) bezeichnet. Auch der Ausdruck Vorkultur, dem man besonders in der medizinischen Literatur häufig begegnet, deckt sich ungefähr mit den angeführten. Er will andeuten, daß der eigentlichen Isolierungsarbeit ein vorbereitendes Züchtungsverfahren vorauszugehen hat, dessen Aufgabe es ist, den Erfolg der ersteren sicherzustellen. Grundsätzlich können wir die einfache Anreicherung und die Anreicherung in Verbindung mit der fraktionierten Zucht auseinanderhalten.

Verschiedenartig sind die Mittel, welche uns in den Stand setzen, in einer Flüssigkeit, gegebenenfalls auch in einem festen Substrat, das Mengenverhältnis der nebeneinander befindlichen Keime so zu beeinflussen, daß eine bestimmte Art oder eine bestimmte Gruppe in den Vordergrund tritt. Der im einzelnen Fall einzuschlagende Weg hat sich ganz nach den herrschenden Umständen zu richten, und ihre richtige Würdigung und Ausnützung ist, wie leicht einzusehen, von größter Tragweite für den Erfolg eines Isolierungsversuchs. Als leitende Gesichtspunkte kommen für den besagten Zweck namentlich folgende in Betracht: 1. Begünstigung der Entwicklung bestimmter Bakterien in einer von mehreren Arten bevölkerten Flüssigkeit durch Verweilenlassen derselben bei einer Temperatur, welche ungefähr dem Optimum der gesuchten Art entspricht. 2. Begünstigung der Entwicklung einer bestimmten Art durch Berücksichtigung ihres mutmaßlichen Verhaltens zum Sauerstoff.

Je nachdem geschieht z. B. die Aufbewahrung der das Keimgemisch enthaltenden Flüssigkeit in flacher Schicht, um reichliche Durchlüftung zu ermöglichen, oder in hoher Schicht, bezw. in vollständig gefüllten Gefäßen, um das anaerobe Wachstum zu fördern. 3. Für den Fall, daß die das Keimgemisch enthaltende Flüssigkeit nicht selbst ein vorzüglicher Nährboden für eine bestimmte gesuchte Art ist, Uebertragung einer geringen Menge dieser Flüssigkeit in einen Nährboden, der alle Eigenschaften besitzt, welche voraussichtlich der Entwicklung des zu isolierenden Organismus günstig, der Entwicklung anderer Arten aber ungünstig sind; eventuell Verbesserung der das Keimgemisch enthaltenden Originalflüssigkeit durch Zusatz von gewissen Nährstoffen. 4. Wenn die Art, von welcher eine Reinzucht beschafft werden soll, unter den Sporenbildnern zu suchen ist, kann eine Anreicherung durch Erhitzen der Flüssigkeit auf Temperaturen bewirkt werden, durch welche alle nicht Sporen bildenden Arten getötet werden. Je nach dem mutmaßlichen Widerstandsgrade der Sporen der gesuchten Art wird man mit der Erhitzung höher oder niedriger zu gehen haben. 5. Anreicherung ist unter Umständen zu erzielen durch Zusatz von antiseptischen Stoffen zu der das Keimgemisch enthaltenden Flüssigkeit in Konzentrationen, welche der gesuchten Art nicht schaden, jedoch eine oder mehrere der begleitenden Arten am Wachstum zu hindern vermögen. 6. Unter Zuhilfenahme fester Nährböden läßt sich in gewissen Fällen eine Anreicherung auf Grund der bei einzelnen Arten in sehr bemerkenswertem Grade ausgebildeten Fähigkeit erzielen, auf der Nährbodenfläche sich schnell ausbreitende Kolonien zu entwickeln. Wird ein Keimgemisch in einem Flüssigkeitströpfchen auf einen solchen Nährboden gebracht, so finden sich nach einiger Zeit am Rande der entstandenen Organismenschicht immer nur einzelne, ganz bestimmte Arten, die vor den anderen dank der raschen Ausbreitung ihrer Kolonien einen Vorsprung haben und nun vielleicht reine Abimpfungen liefern.

Es ist selbstverständlich, daß die Anwendung eines der genannten Verfahren die Benutzung der übrigen nicht auszuschließen braucht, im Gegenteil, es sind sämtliche derselben bei schwierigen Fragen in Erwägung zu ziehen und je nach Umständen in verschiedener Weise kombiniert zu verwenden. Die Fälle, in denen eine einfache Anreicherung auf einem oder mehreren der näher bezeichneten Wege das zahlenmäßige Verhältnis der Arten eines Organismengemisches in überraschender Weise zugunsten einer bestimmten Art beeinflußt, sind nicht selten. Beispiele dafür finden sich an verschiedenen Stellen des Handbuches gelegentlich der Besprechung der Entdeckungsgeschichte einzelner wichtiger Arten.

Zu seiner vollen Bedeutung gelangt aber das Prinzip der Anreicherung erst in Verbindung mit der fraktionierten Zucht, welche ihrerseits nur in Anlehnung an eine zielbewußte Anreicherung die Bemühungen zur Gewinnung einer in Aussicht genommenen Reinzucht wirksam fördern kann. Als fraktionierte Kultur hat Klebs (1) seinerzeit ein Verfahren bezeichnet, das er bei seinen Versuchen, niedere Pilze rein zu züchten, vielfach mit Erfolg angewendet hatte. Eine Spur der keimhaltigen Flüssigkeit wurde mittelst einer Kapillare in sterile Nährlösung übertragen, und sobald in letzterer sich Wachstum eingestellt hatte, wurde daraus wieder eine Spur entnommen, von neuem auf sterile Lösung verimpft und das Vorgehen einige Male wiederholt. In dieser Arbeitsweise gelangt ein Prinzip zur Geltung, das, wie die vorhin erwähnten Maßnahmen, im Sinne einer Anreicherung wirkt. Es

ist nicht unwahrscheinlich, daß die Anwendung dieses Prinzips unter günstigen Umständen zu wirklichen Reinkulturen führen wird, wie folgende Ueberlegung zeigt. In einer beliebigen Nährflüssigkeit wird im allgemeinen ein Bakteriengemisch meist so zusammengesetzt sein, daß
5 eine bestimmte Art das Uebergewicht hat. Ueberträgt man nun eine genügend kleine Menge dieser Flüssigkeit auf eine sterile Flüssigkeit derselben Art, so werden neben der vorherrschenden voraussichtlich nur wenige der anderen in dem ursprünglichen Gemisch enthaltenen Arten auf den neuen Nährboden übergehen. Da aber die vorherrschende Art
10 infolge ihres numerischen Uebergewichts in erster Linie sich vermehren wird und vielleicht die anderen zurückdrängen kann, so ist die Möglichkeit vorhanden, daß schon bei der zweiten oder doch bei einer späteren Uebertragung nur noch Keime einer Art durch die Kapillare den Weg in die sterile Nährlösung finden und so zu einer Reinzucht Ver-
15 anlassung geben. Wenn also einerseits zugestanden werden muß, daß in der fraktionierten Zucht an und für sich ein Mittel zur Erzielung von Reinzuchten gegeben ist, so darf man sich es andererseits nicht verhehlen, welch große Unsicherheit das Verfahren in sich schließt. Wohl ist es möglich, mit seiner Hilfe zu Reinzuchten zu gelangen, aber
20 in vielen Fällen sind es nicht Reinzuchten jener Art, zugunsten deren Isolierung der ganze Versuch unternommen worden ist, sondern Reinzuchten irgend eines anderen, im betreffenden Fall bedeutungslosen Begleitorganismus. Ein solcher Mißerfolg wird in jenen Fällen, in denen es sich um Isolierung anspruchsvoller, schwer kultivierbarer Organismen
25 handelt, sogar die Regel bilden, und in der Tat hat es an irrtümlichen Folgerungen, die auf Ergebnissen der fraktionierten Zucht beruhten, nicht gefehlt, wie aus der älteren medizinisch-pathologischen Literatur zu ersehen ist. Es verbürgt eben noch keineswegs den Erfolg, wenn die für die Uebertragungen benutzte Flüssigkeit ihrer chemischen Zu-
30 sammensetzung nach einen für die reinzuzüchtende Art durchaus günstigen Nährboden bietet und auch die übrigen Entwicklungsbedingungen, namentlich Temperatur und Luftzutritt, in entsprechender Weise berücksichtigt sind. Selbst unter Wahrung dieser Verhältnisse, welche übrigens diejenigen des natürlichen Vorkommens eines Mikroorganismus
35 oft nicht in vollkommener Weise zu ersetzen vermögen, ist auf seine wirksame Anreicherung, geschweige denn auf seine Reinzüchtung, nicht mit Sicherheit zu rechnen, weil die Ueberwucherung empfindlicher Keime durch vegetationskräftige, aber im weiteren bedeutungslose Arten in vielen Fällen nicht zu vermeiden ist.

40 Günstiger liegen die Verhältnisse dann, wenn es sich um die Reinzüchtung von Organismen handelt, welche als Erreger von bestimmten, nach sinnfälligen Erscheinungen oder wenigstens nach der chemischen Natur der Umsetzungsprodukte gut definierbaren Gärungsprozessen zu betrachten sind. In diesem Fall braucht man nach einer geeigneten
45 Nährlösung nicht erst zu suchen, denn als solche kann einfach die von Keimen befreite Flüssigkeit, in welcher die entsprechende Gärung erfahrungsgemäß spontan auftritt, verwendet werden. Dieser Weg war von PASTEUR bei einem Teil seiner Gärungsversuche schon eingeschlagen worden, bevor KLEBS mit seiner fraktionierten Kultur gearbeitet hat.
50 Dadurch, daß PASTEUR aus gärenden Flüssigkeiten zur Zeit ihrer lebhaftesten Zersetzung eine kleine Menge auf neue, aber sterile Flüssigkeit derselben Art verimpfte und diese Ueberimpfung mehrmals wiederholte (successive Kultur), gelangte er zu Zuchten, die, wenn sie

auch nicht absolut rein waren, doch einen solchen Reinheitsgrad besaßen, daß sie in Hinsicht auf die eintretenden Erscheinungen, wie auch in den Ergebnissen der chemischen Prüfung wirkliche Reinzuchten vertreten konnten. Wie man heute weiß, können solche scheinbare Reinzuchten unter Umständen nur gleichartige morphologische Elemente ent- 5 halten und doch aus physiologisch verschieden wirkenden Arten und Rassen zusammengesetzt sein, deren Sonderung aber nur mit Hilfe jener schärferen Trennungsmethoden möglich ist, die in den folgenden Paragraphen zur Besprechung gelangen. Auch kann eine anscheinend reine Zucht mit fremden Keimen behaftet sein, die sich trotz wiederholter 10 Uebertragungen hartnäckig in ihr erhalten, ohne daß dabei Bild und Leistung wesentlich beeinflußt werden. Ueberträgt man aber eine solche Zucht auf einen **anderen** Nährboden, dann kann sich ihr unreiner Charakter plötzlich enthüllen, wenn die veränderten Entwicklungsbedingungen für die bisher unterdrückten Arten nun sich günstig 15 erweisen.

Soweit man auf ausschließliche Verwendung flüssiger Nährböden angewiesen ist, hätte also der Versuch, aus einem Bakteriengemisch eine bestimmte Art herauszuholen und rein zu züchten, dann die größte Aussicht auf Erfolg, wenn alle drei zuletzt besprochenen Hilfsmittel, 20 nämlich die einfache Anreicherung, die fraktionierte Zucht und die Verdünnungsmethode, in geeigneter Verbindung zur Geltung kommen. Man wird sich dessen zu erinnern haben, wenn es sich um die Isolierung und Züchtung von Organismen handelt, die eine gewisse Abneigung gegen das Wachstum auf festen Nährböden bekunden. Wo der Anwendung 25 der letzteren kein Hindernis im Wege steht, dürfte man sich heutzutage zum Zwecke der Reinzüchtung allerdings kaum mehr flüssiger Medien bedienen, oder wenn es geschieht, so verfolgt man dabei den Zweck einer (meist durch die fraktionierte Zucht unterstützten) Anreicherung, welche den Erfolg der endgültigen Isolierung mit Hilfe der festen Nähr- 30 böden vorzubereiten hat.

§ 127. Die durchsichtigen und schmelzbaren Nährböden.

Ein Hauptübelstand beim Arbeiten nach dem Verdünnungsverfahren besteht in der großen Anzahl von Gefäßen, deren man für einen einzigen Reinzüchtungsversuch bedarf. Um diese und andere dem ge- 35 nannten Verfahren anhaftende Mängel zu umgehen, hat Robert Koch (1) von einer von Schroeter geübten Arbeitsweise seinen Ausgang nehmend, den Zusatz von gelatinierenden Substanzen zu den gebräuchlichen Nährflüssigkeiten vorgeschlagen. Die letzteren erhalten dadurch die Eigenschaft, bei mäßiger Wärme flüssig, bei Zimmertemperatur hingegen fest 40 zu sein. In einen solchen flüssig gemachten Nährboden impfen wir ein wenig von dem zu zerlegenden Bakteriengemisch ein und bewirken durch geeignetes Bewegen der Flüssigkeit eine gleichmäßige Verteilung der Keime. Erstarrt nun der Nährboden beim Abkühlen, so wird jeder einzelne Keim getrennt von den übrigen an einer bestimmten Stelle 45 festgehalten. Er kann sich jetzt ungestört vermehren, und so entsteht eine aus gleichartigen Zellen aufgebaute, meist auch für das unbewaffnete Auge sichtbare Ansammlung, die man als **Kolonie** bezeichnet.

Der am häufigsten gebrauchte versteifende Zusatz ist die **Gelatine**, und je nach der Nährlösung spricht man nun von **Fleischsaftge-** 50

latine, Würzegelatine, Molkengelatine usw. In der Regel wird der Gelatinezusatz auf 10 Proz. bemessen. Die wohl am meisten gebrauchte Fleischsaftgelatine enthält außer dem Fleischsaft noch 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Kochsalz. Sie wird häufig kurzweg als Nähr-5 gelatine bezeichnet. Ueber die Bereitung der einzelnen Arten von Nährgelatine sind die methodischen Spezialwerke nachzusehen. Hier sei nur darauf aufmerksam gemacht, daß der Schmelzpunkt nicht unter 25° C liegen sollte, was durch Vermeidung unnötigen Erhitzens und Einhaltung einer mäßigen Alkalescenz ohne Schwierigkeit zu erreichen 10 ist; vergl. hierzu C. von der Heide (1), G. Hesse (1) und W. Gaehtgens (1). Auch schwach saure Gelatinenährböden lassen sich leicht in einer Weise herstellen, die einen Schmelzpunkt von befriedigender Höhe garantiert. Hingegen muß man bei Bereitung der Mostgelatine den natürlichen hohen Säuregehalt des Mostes mit Kalilauge beinahe bis 15 zur Neutralisation abstumpfen, wenn der Nährboden nicht starke Einbuße an Erstarrungsvermögen erleiden soll.

Da jeder Gelatinenährboden bei 30° C flüssig ist, so muß für Kulturen, die eine Aufbewahrung in dieser oder in einer höheren Temperatur, z. B. derjenigen des Brutofens (38—39° C), erfordern, ein mit 20 passenden Eigenschaften versehenes Ersatzmittel an Stelle der Gelatine treten. Ein solches hat sich im Agar-Agar (auch einfach als Agar bezeichnet) gefunden, einer aus gewissen Meeresalgen stammenden getrockneten Gallerte, die in Gestalt dünner Streifen oder gepulvert in den Handel kommt. Die gelatinierende Fähigkeit dieser Substanz ist 25 eine sehr hohe, denn es genügen 1,5 Proz. Zusatz zu der Nährflüssigkeit, um einen Nährboden von genügender Festigkeit zu bekommen. Das Agar löst sich sehr schwer und langsam. Aus diesem Grunde bedient man sich bei der Bereitung von Agarnährböden, wenigstens zur Lösung des Agars, nicht des gewöhnlichen Dampftopfes, sondern man kocht in 30 einem Gefäß über freier Flamme oder noch besser, man erhitzt im Autoklaven. Um dabei nicht zu dunkelfarbige Nährböden zu bekommen, empfiehlt es sich, das Agar in einem Teil der noch nicht neutralisierten Nährflüssigkeit im Autoklaven, allfällig andere Zusätze (Pepton, Zucker u. dergl.) im anderen Teil der Nährflüssigkeit im Dampftopf zu lösen, 35 nachher die beiden Teile zu vereinigen und wie Nährgelatine zu neutralisieren und im Dampftopf weiter zu behandeln. Mit den Schwierigkeiten der Agarbereitung und Ratschlägen zu ihrer Beseitigung befassen sich neben anderen die Mitteilungen von C. Haegler (1), H. Walbaum (1), C. Blecher (1) und Babucke (1). Agarnährböden haben die Eigenschaft, 40 am Glase nicht zu haften. Für die Fälle, in denen dieser Umstand sich störend bemerkbar machen könnte, hat man einen Zusatz von einigen Prozenten Gelatine oder Gummi arabicum vorgeschlagen. Schmelz- und Erstarrungspunkt liegen bei Agarnährböden sehr weit auseinander. Der Schmelzpunkt befindet sich nämlich in der Nähe des Siedepunktes 45 des Wassers, während der flüssig gemachte Nährboden erst beim Abkühlen auf ca. 39° C wieder fest wird. Da diese Temperatur nicht weit von derjenigen entfernt ist, bei welcher empfindliche Organismen schon geschädigt werden, so hat man bei der Impfung Sorge zu tragen, daß die Temperatur des Nährbodens auf mindestens 40° sich hält, aber 50 andererseits 42° C nicht übersteigt. Für Reinzüchtungen bei Temperaturen über 50° oder beim Arbeiten mit Nährlösungen, die auf das Agar einen erweichenden Einfluß üben, kann man anstatt 1,5 Proz. Agar 3—5 Proz. zusetzen, oder auch, wie dies Miquel bei seinen Unter-

suchungen über den *Bacillus thermophilus* (vergl. S. 448) getan hat, 2,5—3,0 Proz. Carraghen an Stelle des Agars benutzen.

Für besondere Zwecke verwendet man die durchsichtigen schmelzbaren Nährböden in Verbindung mit geeigneten Indikatoren. Will man z. B. aus einem Bakteriengemisch nur die säurebildenden Arten 5 gewinnen, so setzt man dem zuckerhaltigen Nährboden noch vor dem Sterilisieren etwas Lackmus zu. Auf den später daraus hergestellten Zuchten umgeben sich dann die Kolonien der Säurebildner mit einem roten Hofe, der sich von der blauen Umgebung auffällig abhebt. Lackmushaltige Nährböden, so der nach DRIGALSKI und CONRADI (1), spielen 10 in neuerer Zeit bei der schnellen Unterscheidung des *Bact. coli* vom *Bact. typhi* eine große Rolle. Zu gleichem Zweck ist von ROTHBERGER (1) ein Zusatz von Neutralrot vorgeschlagen worden; das Eintreten oder Ausbleiben der Reduktion des Farbstoffes wird als maßgebendes Kriterium betrachtet. Zum Studium von Reduktionserscheinungen in festen 15 Nährböden hatte KABRHEL (1) schon früher Methylenblau verwendet. Für den Nachweis von durch Bakterien in Nährböden hervorgerufenen Reaktionsumschlägen benutzte R. ZIELLECZKY (1) Phenolphtalein, W. OMELIANSKI (1) ebensolches in Verbindung mit ameisensaurem Alkali. Zur Kenntlichmachung der Säurebildner hat BEIJERINCK (1) einen Zusatz 20 von fein geschlemmter Kreide empfohlen. Der Kreidenährboden ist undurchsichtig. Er hellt sich jedoch an jenen Stellen der Kultur auf, an denen Säurebildner sich entwickeln, weil diese das Calciumkarbonat zu lösen vermögen. In ähnlicher Weise entstehen auf den Stärkegelatineplatten, wie sie M. H. P. WIJSMAN (1) bei seinen 25 Untersuchungen über die komplexe Natur der Malzdiastase verwendet hat, an jenen Stellen helle Diffusionsfelder, an denen absichtlich aufgebrachte Tröpfchen von Diastaselösung oder zufällig angeflogene Malzstäubchen ihre stärkeumwandelnde Tätigkeit, die mit Hilfe von Jodlösung noch besser veranschaulicht werden kann, entfalten. Auch diese 30 Methode ist auf BEIJERINCK (2) zurückzuführen und im Prinzip mit dem von diesem Forscher als Auxanographie bezeichneten Verfahren verwandt. Dieses will, unter Zuhilfenahme der KOCH'schen Plattenzucht (s. S. 566), ermitteln, welcherlei Nährstoffe für einen gegebenen Mikroben tauglich sind. Man stellt sich Lösungen von 10 Proz. Ge- 35 latine oder 2 Proz. Agar in destilliertem Wasser her, vermischt diese mit den fraglichen Keimen und läßt das Gemisch auf horizontaler Fläche erstarren. Bei der großen Armut an nährenden Stoffen würden die ausgesäeten Organismen sich nur kümmerlich entwickeln. Bringt man aber auf die Oberfläche der Platten einzelne Tropfen von Lösungen jener 40 Substanzen, welche auf ihre Nährkraft geprüft werden sollen, so wird die Flüssigkeit aufgesaugt und es entstehen an den betreffenden Stellen kreisförmige Diffusionsfelder, in deren Bereich nun, je nach der Nährkraft der dort zusammentreffenden Stoffe, mehr oder weniger reichliches, dem bloßen Auge sichtbares Organismenwachstum sich einstellt. Von 45 diesem Verfahren ist BEIJERINCK (3) auch bei der von ihm vorgeschlagenen qualitativen und quantitativen mikrobiochemischen Analyse ausgegangen.

Da sich die gewöhnlichen Gelatine- und Agarnährböden für die Isolierung der nitrifizierenden Organismen als ganz ungeeignet er- 50 wiesen haben, ist von WINOGRADSKY für diesen Zweck eine nach einem Vorschlag von W. KÜHNE (1) aus Kieselsäure durch Vermischung mit einer Nährsalzlösung hergestellte durchsichtige Gallerte benutzt

worden. Näheres darüber findet sich auf S. 155 u. f. des Dritten Bandes, wo auch die von OMELIANSKI für die Züchtung des Nitritbildners zuerst verwendeten Magnesiagipsplatten beschrieben sind. Die letzterwähnten Nährböden haben das Gemeinsame, daß sie ihrer Zusammen-5setzung nach rein mineralisch sind und so zur Züchtung von solchen Organismen sich besonders eignen, für welche die Anwesenheit schon geringer Mengen leicht zersetzlicher organischer Substanzen schädlich wirkt. BEIJERINCK hat gezeigt, auf welche Weise man auch Agar unter Zufügung der notwendigen Mineralbestandteile für die Isolierung und 10 Kultur von Organismen der erwähnten Gruppe verwenden kann; vergl. darüber Bd. III, S. 158.

§ 128. Das Koch'sche Plattenverfahren und seine Abarten.

Das Plattenverfahren, wie es seinerzeit von ROBERT KOCH angegeben worden ist, wird in der Weise gehandhabt, daß man den ver-15flüssigten und in verschiedenen Verdünnungen beimpften Nährboden (z. B. 5—8 ccm in einem Reagensglase) auf eine sterilisierte, gekühlte und auf horizontaler Unterlage ruhende Glasplatte gießt. Die zwei letzteren Bedingungen sind leicht durch Verwendung 20 eines Plattengießapparates zu erreichen, wie er in den früher bezeichneten Handbüchern beschrieben und in *Fig. 78* 25 abgebildet ist. Die Platten werden in größerer Anzahl zusammen in einer Tasche aus Kupferblech oder Schwarzblech im Heißluft-30schrank sterilisiert. Die gleichmäßige Ausbreitung der Gelatine- oder Agarschicht wird durch nachhelfendes Verteilen mittels 35 des Reagensglasrandes erzielt. Um diesen steril zu machen, hält man ihn zuvor für eine kurze Zeit in die Flamme des Bunsen-40brenners und läßt dann genügend abkühlen, bevor man ausgießt. Ist die Nährbodenschicht erstarrt, dann bringt man die Platte in eine 45 sterile feuchte Kammer, welche nun bei geeigneter Temperatur aufbewahrt wird.

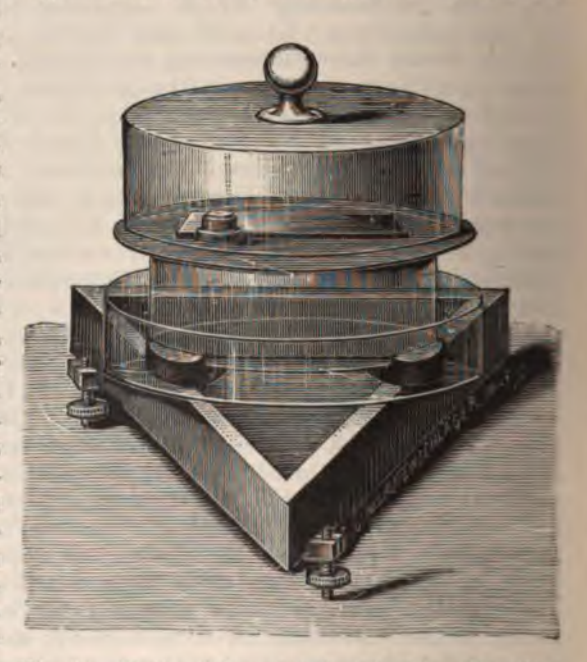


Fig. 78. Plattengießapparat, bestehend aus Nivelliergestell, weiterer und engerer Glasschale, Glasscheibe zur Aufnahme der Platten und Glasglocke zum Bedecken der letzteren. — Ungefähr ein Fünftel der nat. Größe.

Die Handhabung der Platten ist etwas umständlich, und außerdem sind diese, da sie zwecks näherer Untersuchung aus der feuchten Kammer 50 herausgenommen werden müssen, schwer vor Zutritt von Luftkeimen zu

bewahren. Aus diesen Gründen konnten sie nach und nach fast vollständig durch kleine Glasdosen von 10 cm Durchmesser und ca. 1 cm Höhe verdrängt werden. Deren unterer Teil vertritt die Zuchtplatte und ist zur Aufnahme der Nährbodenschicht bestimmt, während der obere Teil als übergreifender Deckel die Zucht vor Verunreinigung zu schützen hat. Diese Dosen erfreuen sich unter dem Namen **Petrischalen** (s. *Fig. 79*) trotz des höhern Preises der mannigfaltigen Vorteile wegen, die sie beim Arbeiten bieten, mit Recht einer allgemeinen Anwendung. Ueber eine von der gewöhnlichen etwas abweichende Form vergleiche man die Figur 73 auf S. 341 des Dritten Bandes, ferner die Mitteilungen von A. Bau (1) und H. W. Hill (1).



Fig. 79. Glasschale mit übergreifendem Deckel, sogen. Petrischale. Gewöhnliche Form. — Ungefähr ein Drittel der nat. Größe.

Die Plattenzuchten (Gußzuchten) in dieser oder jener Form sind ein vorzügliches Mittel nicht nur für die Trennung der in einem Bakteriengemisch enthaltenden Arten, sondern auch zur Bestimmung der Zahl der darin enthaltenen Zellen. Man beschickt zu letzterem Zwecke einige den Nährboden enthaltende Röhrchen mit nach Gewicht oder Volumen bekannten Mengen der Probe und gießt Platten. Dieses Verfahren ist insbesondere für die quantitativ-bakteriologische Untersuchung des Wassers (vergl. hierüber Bd. III, S. 341 u. f.), der Milch, der Erde usw. von Wichtigkeit. Für das Auszählen der auf Platten gewachsenen Kolonien wird gewöhnlich der Wolffhügel'sche Zählapparat (s. Bd. III, S. 345) gebraucht. Bei Benutzung von Petrischalen kommt man mit der einfachen, in Quadratcentimeter geteilten Zählplatte aus, wenn man diese auf ein schwarzes Papier bringt, die Petrischale direkt auf die Zählplatte legt und mittelst guter Lupe die einzelnen Felder absucht. Eine praktische Zählplatte, bei welcher die je 1 qcm betragenden Felder durch ein System von konzentrischen Kreisen und dazu gehörenden Radien gebildet werden (s. *Fig. 80*), ist von Lafar (1) angegeben worden. Die Zuchtplatten, bzw. Zuchtschalen sollten die Kolonien womöglich in nicht zu hoher Zahl enthalten, damit das Auszählen der ganzen Zucht keine Schwierigkeiten bietet. Das Auszählen nur eines Teils der Platte und Feststellung der Gesamtzahl durch Umrechnung ist namentlich bei Petrischalen immer von bedeutenden Fehlern begleitet, weil verschiedene Stellen der Zucht zufolge unebener Beschaffenheit des Glasbodens verschieden dicht bewachsen sind. Für Schalen, welche außerordentlich zahlreiche Kolonien enthalten, bedient man sich bei der Zählung mit Vorteil eines Okular-Netzmikrometers, wobei natürlich erforderlich ist, den Flächenwert des einzelnen Feldes mit Hilfe eines Objektmikrometers zu bestimmen.

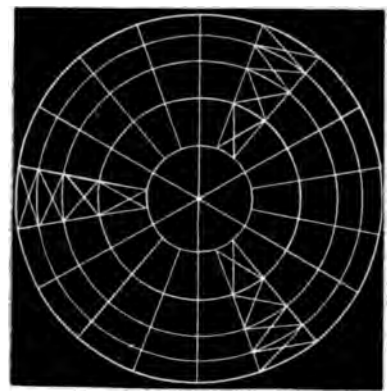


Fig. 80. Zählplatte für Petrischalen nach Lafar. — Ungefähr die Hälfte der nat. Größe.

Bei den Keimzahlen, die auf diesem oder jenem Wege ermittelt

wurden, ist immer im Auge zu behalten, daß sie niedriger sind als die wirkliche Zahl der im Aussaatmaterial enthaltenen lebenden Keime. Abgesehen davon, daß Keimverbände oder Keimkonglomerate bei Herstellung der Verdünnungen nicht immer in ihre Elemente getrennt 5 werden, sondern als Ganzes erhalten bleiben und daher zur Entstehung nur einer Kolonie Veranlassung geben (s. Bd. IV, S. 108—109), hat man es auch noch mit Keimen zu tun, die sich entweder auf dem verwendeten Nährboden überhaupt nicht entwickeln, oder die wenigstens unter den eingehaltenen Bedingungen nicht zu Kolonien auswachsen; vergl. 10 darüber Bd. III, S. 337 u. 439. Von großer Bedeutung für die Ermittlung möglichst richtiger Keimzahlen ist auch die Zeit, zu welcher die Zählung vorgenommen wird. Zwar scheint es zum vorneherein selbstverständlich, daß erst dann gezählt werden soll, wenn eine Zunahme der Kolonien nicht mehr zu erwarten ist. Der praktischen Erfüllung dieser 15 Forderung tritt jedoch speziell bei Gelatinekulturen der Umstand hindernd entgegen, daß viele Bakterienarten durch Ausscheidung proteolytischer Enzyme den Nährboden in kurzer Zeit verflüssigen. Haben sich einige Kolonien solcher Arten entwickelt, so sind diese imstande, die ganze Zucht in wenigen Tagen vollständig zu verderben, eine Zucht, 20 die im Laufe von zwei Wochen vielleicht Tausende von nicht-verflüssigenden Kolonien hervorgebracht hätte. Eine Zählung vor eingetretener Verflüssigung wäre unter diesen Umständen ohne Wert. Man wird sich vielmehr nach Mitteln umsehen müssen, welche es ermöglichen, die für Entwicklung einer Plattenzucht notwendige Zeit abzuwarten. 25 Nachdem schon früher versucht worden war, auf Gelatine-Platten aufgetretene verflüssigende Kolonien durch Behandlung mit Kaliumpermanganat oder Sublimat am Weiterwachsen zu hindern, hat neuerdings Hiltner (1) darauf aufmerksam gemacht, daß, wenigstens bei Platten mit Bodenbakterien, dieser Zweck mit Hilfe eines sogen. Silber-30 stiftes, also eines in einem Halter befestigten Stängelchens von Höllenstein ($AgNO_3$), sehr wohl erreicht werden könne, indem das überschüssige Antiseptikum nicht, wie die vorgenannten, auch benachbarte Kolonien stört, sondern durch Chloride des Nährbodens sofort in unlösliches und daher unschädliches Silberchlorid übergeführt wird. In betreff des Zu-35 sammenhanges von Zeit der Zählung und Keimzahl sei im übrigen auf die auf S. 345 des Dritten Bandes angeführten Ermittlungen von Miquel und Abba hingewiesen, mit denen die Angaben von G. de Rossi (1) zu vergleichen sind.

Neben den gewöhnlichen Platten- und Schälchen-Zuchten sind noch 40 einige Methoden im Gebrauch, die sich sehr gut zur Isolierung von aeroben Kleinwesen, hingegen, mit Ausnahme der nächsterwähnten, weniger zu Keimzahlbestimmungen eignen. Es handelt sich bei diesen Methoden um Abarten des gewöhnlichen Plattenverfahrens, denn sie alle sind aus diesem hervorgegangen.

45 Bei der Methode der Rollröhrchen nach E. von Esmarch (1) wird die mit den Keimen gemischte Gelatine nicht ausgegossen, sondern durch fortwährendes Drehen des Reagensglases um die Längsachse bei fast horizontaler Lage an der Innenwand desselben zum Erstarren gebracht. Für die Herstellung der „Rollzuchten", die natürlich unter 50 entsprechender Kühlung erfolgen muß, haben Praussnitz (1) und Andere besondere Rotationsapparate ersonnen. Diese Art von Zuchten eignet sich nur für die Trennung von Keimgemischen, die arm an schnell verflüssigenden Arten sind, und in diesem Fall auch ganz gut für quan-

titative Untersuchungen, während einwandfreie Abimpfungen einzelner Kolonien aus naheliegenden Gründen schwierig zu bewerkstelligen sind. Um Nährboden zu sparen, verteilt ihn SOYKA (1) in geschmolzenem Zustande aus einem einzigen Gläschen in eine Anzahl von Vertiefungen, die sich auf dem Boden einer Doppelschale befinden, infiziert nun die erste Abteilung, mit einer kleinen Menge, aus dieser die zweite usf., so daß eine Reihe verschiedener Verdünnungen entsteht, die nach dem Erstarren des Nährbodens ebenso vielen Zuchtplatten im kleinen entsprechen. Bei genügender Vorsicht läßt sich das Verfahren als „Tropfenkultur" auch in einer gewöhnlichen Petrischale ausführen. — Im Gegensatz zu den eben genannten beruhen die folgenden Verfahren auf dem Prinzip der Oberflächenzucht. Bei dieser wird das keimhaltige Material nicht mit dem verflüssigten Nährboden vermischt, sondern dieses wird in irgend einer Weise auf die Oberfläche des sterilen, festen Nährbodens aufgebracht. So besteht die Isolierung auf Schrägagar, die nach LOEFFLER im Kais. Gesundheitsamt in Berlin schon in den achtziger Jahren geübt worden ist, in einer Impfung des sich am Grunde des Gläschens ansammelnden sogen. Kondenswassers, das man nun über die Agarfläche sich ausbreiten läßt, um nachher die Zucht in senkrechter Stellung aufzubewahren. Einige auf der Nährbodenfläche bei der Ueberschwemmung mit dem Kondenswasser haften gebliebene Keime können sich unter Umständen zu gut isolierten, abimpfbaren Kolonien entwickeln. Anstatt das Kondenswasser zu beimpfen, kann man auch das Material in geeigneter Verdünnung mittels einer Platinöse oder eines einfachen Platindrahtes auf der Fläche des schräg erstarrten Nährbodens zerteilen. In ähnlicher Weise werden die Oberflächenplattenzuchten hergestellt. DROSSBACH (1) ließ die keimhaltige Flüssigkeit über die feste, sterile Agarplatte fließen, R. BURRI (1) hat die sterile Nährbodenschicht durch Aufbringen feinster keimhaltiger Wassertröpfchen mittelst eines Zerstäubers geimpft, PAFFENHOLZ (1) mit Hilfe eines aus feinen Drähten gearbeiteten Platinpinsels, P. LINDNER (1) mittelst eines Tuschepinsels (s. Bd. V, S. 174). Ebenfalls zum Typus der Oberflächenplattenzucht gehört das in neuester Zeit von H. WICHMANN und H. ZIKES (1) angegebene Verfahren zur Reinzüchtung der Hefe, wobei kleinste Tröpfchen der Hefenaufschwemmung in Bierwürze auf eine Schicht erstarrter Würzegelatine gebracht werden, die sich auf einem quadrischen Deckglas befindet, welches in bekannter Weise auf dem Ring der BÖTTCHER'schen Kammer (s. Bd. IV, S. 110) oder auf dem hohlgeschliffenen Objektträger befestigt wird.

§ 129. Die Weiterzüchtung der mit Hilfe des Plattenverfa[hrens] gewonnenen Reinzuchten.

Hat man bei Anwendung des Plattenverfahrens nicht [den] Zweck verfolgt, durch die Zählung der gewachsenen Kolonien [Aufschluß] über den Keimreichtum des Ausgangsmaterials zu bekommen[,] sollen einzelne der zur Entwicklung gelangten Organismen n[äher unter-]sucht werden, so empfiehlt sich auf keinen Fall, diese durc[h längere] Zeit auf den Platten vegetieren zu lassen. So bald als mögl[ich wird] eine Abimpfung vorgenommen, oder die Kolonien werden [abge-]stochen oder gefischt, wie die technischen Ausdrück[e lauten. Diese] Operation besteht darin, daß man mit Hilfe eines passend

und zwar meistens mit Hilfe einer vorher ausgeglühten Platinnadel, unter Kontrolle mit der Lupe oder dem Mikroskop eine Spur von der Kolonie wegnimmt und auf einen frischen, sterilisierten Nährboden überträgt. Zum Zwecke der bequemen Handhabung werden die betreffenden 5 Nadeln am einen Ende eines Glasstabes angeschmolzen oder auf den von KOLLE angegebenen besonderen Haltern (s. *Fig. 81*) festgeschraubt. Der Nährboden ist in der Regel in einem Reagensglas enthalten und bietet in dieser Form gegen eine Verunreinigung mit 10 fremden Keimen eine viel größere Sicherheit als die Zucht in der Petrischale oder gar auf der Glasplatte, abgesehen von dem Umstande, daß in beiden letzteren Fällen mit fortschreitender Zeit benachbarte Kolonien einander berühren und sich vermischen können. Aus 15 anderorts besprochenen Gründen (s. Bd. IV, S. 108—109) ist bei den in üblicher Weise hergestellten Plattenzuchten nicht mit Sicherheit darauf zu rechnen, daß eine Kolonie immer das Produkt der Vermehrung einer einzigen Zelle ist. Bevor man also zu einer 20 Abimpfung übergeht, verschafft man sich zweckmäßigerweise Gewißheit über die Frage, ob die abzuimpfende Kolonie an sich eine Reinzucht im strengen Sinne des Wortes verkörpert. Eine bloße mikroskopische Untersuchung ist nicht imstande, uns hierüber un- 25 zweideutigen Aufschluß zu geben, sondern nur das Plattenverfahren selbst, das unter Umständen so oft zu wiederholen ist, bis Zuchten erzielt werden, die keine anderen Kolonien als die gewünschten enthalten. Nur die einheitlich bewachsene, also r e i n e Platten- 30 zucht sollte als Ausgangspunkt für die Abimpfungen auf die verschiedenen Nährböden dienen.



Fig. 81. Impfnadeln verschiedener Form, durch Verschraubung auf dem Nadelhalter befestigt. Etwas über ein Drittel der nat. Größe.

Sticht man die vorher ausgeglühte und z. B. in eine Kolonie einer reinen Plattenzucht getauchte gerade Nadel (*D* der Fig. 81) in den im Reagens- 35 glas enthaltenen Gelatine- oder Agarzylinder ein, so entwickeln sich die eingeimpften Zellen, vom Stichkanal ausgehend, zu einer sogen. S t i c h z u c h t. Je nach dem Abhängigkeitsverhältnis der betreffenden Art zum Sauerstoff, gestaltet sich das Wachstum im Stichkanal wie auch an der Oberfläche in besonderer Weise. Man unterscheidet dabei 40 den o b l i g a t a e r o b e n, den f a k u l t a t i v a n a e r o b e n und den o b l i g a t a n a e r o b e n-Typus (s. S. 313). Legt man ein Reagensglas, welches ungefähr 5—8 ccm Nährgelatine oder Nähragar verflüssigt enthält, stark schief, so erstarrt der Inhalt zu einem keilähnlichen Körper. Streicht man auf dessen ebene Fläche ein wenig von einer Zucht, dann 45 entwickelt sich daraus eine sogen. S t r i c h z u c h t. Nichts anderes als eine besondere Art von Strichzuchten sind auch die K a r t o f f e l z u c h t e n. Bei letzteren wird das Bakterienmaterial auf die Schnittfläche eines sterilisierten Kartoffelstückes mittelst Platinnadel durch ein- oder mehrmaliges Darüberstreichen gebracht. Während früher für diesen Zweck 50 Kartoffelhälften, die man in Glasdosen aufbewahrte, beliebt waren, bedient man sich in neuerer Zeit mehr der Gefäße in Form von weiten, einen kugeligen Unterteil besitzenden Reagensröhren, in welchen die halbzylinder- oder keilförmigen Kartoffelstücke sterilisiert werden. Das

Sterilisieren wird am besten im Drucktopf vorgenommen und zwar durch Erhitzen während 45 Minuten bei 0,5 at Ueberdruck. Man wird auf diese Weise sicher die zählebigen Sporen gewisser Erdbakterien abtöten, mit denen die Kartoffel immer behaftet ist und die sich auch bei gründlichster mechanischer Reinigung nicht ganz beseitigen lassen. Zu einer Zeit, als man über die staunenerregende Widerstandskraft dieser Dauerformen noch nicht genügend unterrichtet war, hat man das Sterilisieren der für Züchtungszwecke bestimmten Kartoffeln oft mit ungenügenden Mitteln vorgenommen. Die Folge davon war das gelegentliche Auftreten eines üppigen Bakterienwachstums in Form eines dicken, runzeligen Belags auf dem vermeintlich sterilisierten Nährboden. Von diesem Befund stammt die Bezeichnung Kartoffelbazillen, die man der betreffenden Organismengruppe beigelegt hat und die sie auch heute noch führt. Es ist demnach zu beachten, daß eine nähere Beziehung zwischen der Kartoffel und diesen Bakterien nicht besteht, sondern daß die letzteren bestimmte Erdbakterien sind, die ebenso gut auf anderen Materialien gefunden werden können, die der Verunreinigung mit Erdteilchen ausgesetzt waren. Aehnlich wie Kartoffeln können auch andere feste Nährböden für Strichzuchten Verwendung finden, so z. B. Möhrenscheiben, Reisbrei und die schon früher (S. 566) erwähnten mit Nährlösung getränkten Gipsplatten.

Eine weitere sehr empfehlenswerte Zuchtform in festem Nährboden, die erst beginnt, sich der gebührenden Würdigung durch die Fachkreise zu erfreuen, liegt in der sogen. Schüttelkultur vor. Sie wird hergestellt, indem man aus einer Reinzucht Bakterienmaterial in nicht zu geringer Menge in den verflüssigten Nährboden bei höchstens 42° C überträgt, durch Schütteln das Ganze gut mischt und das Gemisch durch Abkühlung zum Erstarren bringt. Der Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, daß ein allfällig der eingeimpften Art zukommendes Gasbildungsvermögen in sehr ausgeprägter Weise in die Erscheinung tritt. Sodann macht sich hier das besondere Verhalten einer Art zum Sauerstoff der Luft (vergl. S. 325 u. f.) in mindestens ebenso charakteristischer Weise geltend wie in der Stichzucht, die man sonst gewöhnlich heranzieht, wenn es sich um eine rasche und einfache Orientierung in dieser Hinsicht handelt.

Flüssige Zuchten sind vorzüglich geeignet, dem eingeimpften Organismus Gelegenheit zur uneingeschränkten Entfaltung seiner Lebensäußerungen zu bieten, und aus diesem Grunde spielen sie eine Hauptrolle bei Untersuchungen, welche die Klarlegung der durch einzelne Arten bewirkten chemischen Umsetzungen zum Zwecke haben. Ihrem Umfang ist sozusagen keine Grenze gesteckt, während bei festen Nährböden, welche in der Regel die gesamte Organismenmasse als Belag oder Rasen an der Oberfläche tragen, die Herstellung von Massenzuchten, wie sie z. B. mit Hilfe der sogen. Kolleschalen (s. *Fig. 82*) betrieben wird, bedeutend umständlicher ist (vergl. Bd. III, S. 123). Beim Arbeiten mit Flüssigkeitszuchten ist indessen der wichtige Umstand nie aus dem Auge zu verlieren, daß ihre zufällige Verunreinigung mit einem fremden Keim viel leichter dem Versuche zum Verhängnis werden kann, als wenn ein fester Nährboden vorliegt. Im ersteren Falle steht der Vermehrung und Ausbreitung des Eindringlings durch die ganze Zucht
Umständen nichts im Wege, während auf fester Unterlage
reinigung mit fremden Keimen örtlich beschränkt bleibt
meinen sich leicht zu erkennen gibt. Der Gärungsphysi

her aus der chemischen Untersuchung flüssiger Zuchten keine Schlüsse ziehen, ohne sich vorher durch besondere Versuche zu überzeugen, daß



Fig. 82. Schale nach Kolle zur Herstellung von Massenzuchten auf festen Nährböden. — Ca. ein Drittel der nat. Größe.

an der festgestellten Umsetzung keine andere als die eingeimpfte Art beteiligt war.

5 Hier sei noch einer besonderen Form der Flüssigkeitszucht gedacht, die dazu dient, die Gasmengen zu messen, die von gewissen Organismen in geeigneten Nährlösungen gebildet werden. Es ist die Zucht im Gärkölbchen (s. *Fig. 83*) nach Th. Smith (1), die überdies erlaubt, auf einfache Weise einen annähernden 10 Aufschluß über die Zusammensetzung des entwickelten Gases zu bekommen. Diese Methode, wie auch die Verwendung des noch einfacheren zweischenkligen Gärröhrchens ist übrigens 15 mit großen Fehlerquellen behaftet. O. E. Vogel (1) hat eine Verbesserung des Gärröhrchens angegeben, bei welchem die letzteren zum Teil vermieden werden. Ueber die genaueren Me- 20 thoden der Untersuchung von Gasgemischen, die im Verlauf des Stoffwechsels bei Mikroorganismen aufzutreten pflegen, hat Arthur Meyer (1) eingehende Mitteilungen gemacht. 25 Man vergl. auch E. Hofstädter (1).

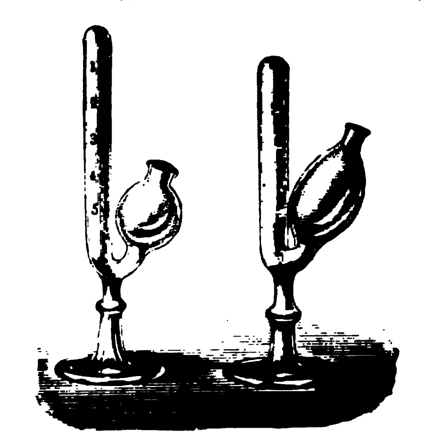


Fig. 83. Gärkölbchen nach Th. Smith zur quantitativen und qualitativen Untersuchung der Gärungsgase. — Ein Drittel der nat. Größe.

Die Anwendung sämtlicher erwähnter Züchtungsarten auf einen in Reinzucht vorhandenen Mikroorganismus liefert uns eine Summe von 30 Merkmalen, die gewöhnlich zusammenfassend als züchterische (kulturelle) bezeichnet werden und die sich mit den unter Zuhilfenahme des Mikroskopes ermittelten morphologischen Eigenschaften so ergänzen, daß eine Charakterisierung der Art auf Grund der gesamten Feststellungen möglich ist. Die an Hand der verschiedenen 35 Züchtungsverfahren beobachteten Wachstumseigentümlichkeiten sind indessen im allgemeinen nicht leicht zu bewerten, und nur eine gewisse Uebung und Erfahrung kann davor bewahren, Wichtiges zu übersehen

und Nebensächlichem eine Bedeutung beizumessen, die ihm nicht gebührt. So ist z. B. nach den Ausführungen auf S. 22—23 des Vierten Bandes der Bau der Kolonien auf Plattenzuchten sozusagen gar nicht geeignet, ein Unterscheidungsmerkmal für Arten und Rassen der Hefen abzugeben, und auch bei den Bakterien, bei denen uns in dieser Beziehung auf den ersten Blick eine viel größere Manigfaltigkeit entgegentritt, müssen Aussehen, Größe und Struktur der Plattenkolonien mit besonderer Vorsicht für den genannten Zweck herangezogen werden. Eine Klärung der betreffenden Verhältnisse und Fragen wird durch Arbeiten von St. Serkowski (1) und C. Axelrad (1) angestrebt, denen eine Untersuchung von Ph. Eisenberg (1) über sekundäre Bakterienkolonien anzureihen wäre. Ueber Wesen und Bedeutung der sogen. Riesenkolonien vergl. man Bd. IV, S. 23—24 und S. 288 u. 306. Die betonten Schwierigkeiten werden noch durch die Veränderlichkeit gewisser Merkmale erhöht, welche innerhalb gewisser Grenzen tatsächlich häufig zur Beobachtung gelangt. Solche Beobachtungen haben schon Veranlassung zu Verallgemeinerungen im Sinne einer fast unbegrenzten Variabilität gegeben, die indessen bei genauer Nachprüfung sich in ein Zeugnis zugunsten der Konstanz der Art umgewandelt haben. Nützliche Winke betreffend die Artcharakterisierung sind an verschiedenen Stellen dieses Handbuches zu finden, so auf S. 120 u. f. des Dritten Bandes über Verflüssigung der Gelatine, wozu man auch Hastings (1) und Eijkman (1) vergleiche, auf S. 325 u. f. sowie S. 357 des vorliegenden Bandes über das Verhalten zum Sauerstoff, auf S. 319 über Säuerung des Nährbodens, auf S. 108 und S. 214 u. f. des Dritten Bandes über Schwefelwasserstoffbildung usw. Es darf wohl gesagt werden, daß die in den systematischen Werken niedergelegten Beschreibungen von Mikroorganismen zum größeren Teil lückenhaft sind und ihren Zweck, bestimmte Arten als solche erkennen und identifizieren zu lassen, nicht erfüllen. Bei der geringen Differenzierung, speziell der Spaltpilze, in morphologischer Beziehung ist eine weitgehende Berücksichtigung der physiologischen Verhältnisse doppelt geboten, und um solche handelt es sich bei den Wachstumseigentümlichkeiten der Reinzuchten auf Nährböden verschiedener Zusammensetzung, bei der Züchtung als Platten-, Stich-, Strichzucht usw. Eine allen Eigenschaften gerecht werdende Vielseitigkeit und im Rahmen dieser Vielseitigkeit Beschränkung auf das Charakteristische sollte bei jeder Bakterienbeschreibung herrschender Grundsatz sein.

Die **Aufbewahrung lebender Zuchten** richtet sich einigermaßen nach der Natur des betreffenden Organismus. Was zunächst die Lebensfähigkeit der Reinzuchten überhaupt anbetrifft, so sind nicht Sporen bildende Arten in verschiedenem Grade empfindlich, indem einige eine Uebertragung auf frischen Nährboden von Woche zu Woche verlangen, während andere ganz gut 2 und 3 Monate in demselben Nährboden lebenskräftig bleiben. Sporenbildende Arten können unter Umständen völlig austrocknen und selbst nach 18 Jahren beim Anfeuchten mit Wasser normale Zuchten liefern, wie dies durch A. von Székely (1) in einem Fall für den Erreger des Milzbrandes nachgewiesen wurde. Werden die nicht Sporen bildenden Arten in geeigneter Weis[illegible] dem Austrocknen geschützt, so kann ihre Lebensdauer bedeutend [illegible] werden. Aus diesem Grunde wird als Aufbewahrungsform [illegible] meinen die Stichzucht gewählt, wenn nicht durch besondere [illegible] Zuschmelzen der Gefäßmündung, Ausgießen derselben mit [illegible]

Paraffin u. dergl., ein dichter Verschluß der Zucht erfolgt, welcher eine Rücksichtnahme auf ihre besondere Form unnötig macht. Bei gewissen Arten hat sich die Verwendung eines flüssigen Nährbodens zur Erhaltung der Lebenskraft als besonders günstig erwiesen. Förderlich in dieser 5 Beziehung überhaupt wie für die Erhaltung der typischen Eigenschaften im besonderen ist sodann eine niedrige Aufbewahrungstemperatur, und zwar gilt dies auch für Arten, die sonst ihre Tätigkeit nur bei Körperwärme entfalten. Trotz Einhaltung der günstigsten Bedingungen ist indessen für manche Kleinwesen die Forderung, sie beliebige Zeit unter 10 Beibehaltung der ursprünglichen Eigenschaften als Reinzucht weiterzuführen, unerfüllt geblieben. Es scheint, als ob schon die Loslösung aus den natürlichen Verhältnissen ihres Vorkommens diese Wesen zur Degeneration (s. S. 369) disponiere, ein Uebelstand, dem voraussichtlich nur durch Heranziehung bestimmter Begleitorganismen bei 15 Fortführung der Zuchten abgeholfen werden könnte. In diesem Sinne wären die Erfolge zu verstehen, die SCHÖNFELD (1) bei Biersarcinen hatte, wenn er diese in Gegenwart einer kräftig gärenden Hefe anstatt in steriler Würze oder in Hefenwasser aufbewahrte. Daß aber beim Versagen von Reinzuchtüberimpfungen auch noch andere Momente, als 20 das eben erwähnte, eine Rolle spielen, zeigen die von B. HEINZE (1) bei *Azotobacter* gemachten Erfahrungen. Hier hat ein von diesem Autor als Passagekultur bezeichnetes Verfahren, nämlich die von Zeit zu Zeit vorgenommene Uebertragung auf einen Nährboden von veränderter Zusammensetzung, gute Dienste geleistet, wo die Weiterzüchtung auf 25 dem ursprünglich verwendeten, sonst vorzüglichen Nährboden nicht gelingen wollte. Ueber die Aufbewahrung lebender Hefenreinzuchten und deren Versendung vergl. man Bd. IV, S. 112 u. f.

Das Konservieren der Zuchten für Unterrichts- und Sammlungszwecke geschieht am besten nach dem Vorschlage von G. HAUSER (1) 30 mit Formaldehyd. Zuchten in Reagensgläsern behandelt man derart, daß man den Wattepfropf mit Formalin befeuchtet und dann eine Gummikappe aufsetzt, welche vor Austrocknung schützt. Platten und Zuchten in Petrischalen hält man einige Zeit mit Filtrierpapier bedeckt, das mit dem Antiseptikum befeuchtet ist. Lezteres tötet die Zuchten 35 ab, ohne deren Form zu ändern. Es dringt auch in den Nährboden ein, macht die Gelatine hart und zu fernerer Entwicklung von Organismen untauglich, so daß derart hergestellte Präparate von geradezu unbegrenzter Dauerhaftigkeit sind. Genauere Anleitung zur Haltbarmachung von Reinzuchten von Gärungsorganismen und praktische Winke betreffend 40 die Zusammenstellung der für die Zwecke sowohl des Unterrichtes als auch der Forschung ungemein nützlichen mykologischen Museen findet man in den Abhandlungen von J. SOYKA (2), von F. KRÁL (1), von H. PLAUT (1), von E. CZAPLEWSKI (1) und von E. KRÜCKMANN (1).

Literatur

zum Kapitel Die Reinzüchtung aerober Kleinwesen.

***Axelrad,** C., (1) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 44, S. 476. ***Babucke,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1906, Bd. 40, Orig., S. 607. ***Bau,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 645. ***Beijerinck,** M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 9, S. 781. — (2) Archives Néerlandaises des Scinces exactes et nat., 1889, Bd. 23, S. 367. — (3) Centralbl. f. Bakt., 1891. Bd. 10, S. 723. ***Blau,** Oskar, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1905, Bd. 15, S. 97. ***Blecher,** C., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1905, Bd. 14, S. 415. ***Brefeld,** Oskar, (1) Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, 1874, Heft II. ***Burri,** R., (1) Arch. f. Hyg., 1893, Bd. 19, S. 1. ***Cohn,** Ferd., (1) Beitr. z. Biol. d.

Pflanz., 1870, Bd. 1, S. 127. ***Czaplewski,** E., (1) Centralb. f. Bakt., 1889, Bd. 6, S. 409. ***Dahmen,** Max, (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 12, S. 302. ***Drigalski,** von, und **Conradi,** (1) Z. f. Hyg., 1902, Bd. 39, S. 283. ***Drossbach,** (1) Centralbl f. Bakt., 1892, Bd. 12, S 653. ***Eijkman,** C., (1) Centralbl, f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 531. ***Eisenberg,** Ph., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1905, Bd. 40, Orig., S. 188. ***Esmarch,** E. von, (1) Z. f. Hyg., 1886, Bd. 1, S. 1. ***Fischer,** Alfred, (1) Vorlesungen ü. Bakterien. 2. Aufl., Jena 1903. ***Fitz,** Albert, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1882, Bd. 15, S. 867. ***Fraenkel,** C., (1) Hyg. Rundsch., 1894, Bd. 4, S. 772. ***Gaehtgens,** Walter, (1) Arch. f. Hyg., 1905, Bd. 52, S. 239. ***Gottheil,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1901, Bd. 7, S. 430. ***Haegler,** Carl S., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1895, Bd. 17, S. 588. ***Hastings,** E. G., (1) Vortrag; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 384. ***Hauser,** G., (1) Münchner med. Wochenschr., 1893, Bd. 15, S. 567 u. 655. ***Hayduck,** (1) Cit. n. Maercker (1). ***von der Heide,** C. C., (1) Arch. f. Hyg., 1897, Bd. 30, S. 82. ***Heim,** Ludwig, (1) Lehrbuch der Bakteriologie etc., Stuttgart 1898. ***Heinze,** Berthold, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1905, Bd. 14, S. 75. ***Hesse,** Gustav, (1) Z. f. Hyg., 1904, Bd. 46, S. 1. ***Hill,** H. W., (1) Journal of Medical Research, 1904, Bd. 13, S. 93. ***Hiltner,** Lorenz, und **Störmer,** K., (1) Arb. a. d. Biol. Abt. Kais. Ges.-Amt, 1903, Bd. 3, S. 445. ***Hofstädter,** Erich, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 13, S. 765. ***Hueppe,** F., (1) Die Methoden der Bakterienforschung. 5. Aufl., Wiesbaden 1891. ***Kabrhel,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1899, Bd. 25, S 555. ***Klebs,** (1) Arch. f. experim. Pathologie, 1873, Bd. 1, S. 31. ***Klöcker,** Alb., (1) Die Gärungsorganismen. 2. Aufl., Stuttgart 1906. ***Koch,** Rob., (1) Mitt. Kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1, S. 27 u. 36. ***Král,** Franz, (1) Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. 5, S. 392. ***Krückmann,** Emil, (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 851. ***Kühne,** W., (1) Z. f. Biologie, 1890, Bd. 27, S. 172. ***Lafar,** F., (1) Z. f. Nahrungsmittel-Unters. etc., 1893, Bd. 7, S. 429. ***Laurent,** E., (1) Ann. soc. belg. de microsc., 1890, Bd. 14, S. 29. ***Lehmann,** K. B., und **Neumann,** R. O., (1) Atlas und Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. I. Teil: Atlas; II. Teil: Text. 3. Aufl., München 1904. ***Lindner,** Paul, (1) Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 4. Aufl., Berlin 1905. — (2) W. f. Brauerei, 1903, Bd. 20, S. 57. ***Löhnis,** F., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 262. ***Mayer,** Adolf, (1) Untersuchungen ü. d. alkoholische Gärung, d. Stoffbedarf u. d. Stoffwechsel d. Hefepflanze. Heidelberg 1869. — (2) Dinglers Journ., 1871, Bd. 201, S. 69. ***Maercker,** Max, (1) Handbuch d. Spiritusfabrikation. 5. Aufl., Berlin 1890, S. 82. ***Meyer,** Arthur, (1) Practicum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903. ***Mez,** C., (1) Mikroskopische Wasseranalyse. Berlin 1898. ***Nägeli,** Carl von, (1) Sitzungsber. d. Bayr. Akad. d. Wiss., Mathem.-physik. Kl., 1879, Bd. 9, S. 395. ***Neide,** Ernst, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 1. ***Omelianski,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd. 34, Orig., S. 1. ***Paffenholz,** (1) Hyg. Rundsch., 1895, Bd. 5, S. 734. ***Pasteur,** Louis, (1) Ann. de chim. et de phys., 1860, 3. sér., Bd. 58, S. 323. ***Petri,** R. J., und **Maassen,** A., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1892, Bd. 8, S. 30. ***Plaut,** H., (1) Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. 5, S. 324. ***Prausnitz,** (1) Centralbl. f Bakt., 1891, Bd. 9, S. 128. ***Proskauer,** Bernhard, und **Beck,** M., (1) Z. f. Hyg., 1894, Bd. 18, S. 128. ***Raulin,** (1) Ann. des sciences nat., 1869, Bd. 2, S. 224. ***Reinsch,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 10, S. 415. ***Rossi,** Gino de, (1) Riv. d'Igiene e di San. publ., 1905; ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1905, Bd. 14, S. 439. ***Rothberger,** C. J., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd 24, S. 515 u. 1899; Bd. 25, S. 15. ***Schönfeld,** F., (1) W. f. Brauerei, 1899, Bd. 16, S. 681. ***Schouten,** S. L., (1) Z. f. wiss. Mikroskopie, 1905, Bd. 22, S. 10. ***Schweinitz,** E. A. von, (1) The New York Medical Journal, 1893; ref. in Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. 14, S. 330. ***Serkowski,** St., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt. 1901, Bd. 7, S. 391. ***Smith,** Theobald, (1) Centralbl. f. Bakt., 1896, Bd. 19, S. 181. ***Soyka,** J., (1) Allg. Wiener med. Zeitg., 1888, Nr. 42. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 1, S. 542. ***Székely,** August von, (1) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 44, S. 359. ***Uschinsky,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. 14, S. 316. ***Vogel,** Otto E., (1) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 44, S. 299. ***Voges** und **Proskauer,** (1) Z. f. Hyg., 1898, Bd. 28, S. 20 ***Walbaum,** Hermann, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 30, S. 790. ***Wichmann,** H., und **Zikes,** H., (1) Allg. Zeitschr. f. Bierbrauerei und Malzfabrikation, 1905, Nr. 1. ***Wijsman,** M. H. P. jr., (1) Recueil des travaux chim. des Pays-Bas, 1890, Bd. 9, Nr. 1. ***Zielleczky,** Rudolf, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1902, Bd. 32, Orig., S. 752.

(*Manuskript-Einlauf: 18. Juni 1906.*)

23. Kapitel.

Die Züchtung anaerober Kleinlebewesen.

Von

Dr. W. Omeliansky
in St. Petersburg.

§ 130. Die Lehre von der Anaerobiose.

Die Bedeutung, welche die Entdeckung der Anaerobiose, d. h. des Gedeihens von Lebewesen bei Ausschluß von freiem Sauerstoff, für die Mikrobiologie hatte, insbesondere aber die Rolle, welche diese Entdeckung in der Entwicklung unserer Ansichten über die Gärungsvorgänge gespielt hat, verdient eine genauere Besprechung dieser Erscheinung und insbesondere der ersten Beobachtungen, welche zu deren Feststellung geführt haben.

Den ersten Anstoß zum Studium der Anaerobiose gab eine kleine Veröffentlichung von Pasteur (1), welche im Jahre 1861 unter dem Titel „Animalcules infusoires vivant sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations" erschienen ist. In dieser Abhandlung beschreibt Pasteur den von ihm entdeckten Erreger der Buttersäuregärung der Milchsäure (*Vibrion butyrique*), welcher bei vollständigem Sauerstoffausschluß leben und sich sozusagen bis ins Unendliche vermehren kann (s. Bd. II, S. 110). Das Sauerstoffgas, welches für das Gedeihen aller bis dahin bekannt gewesenen pflanzlichen und tierischen Organismen durchaus notwendig ist, erwies sich für den genannten neuen Organismus nicht nur als unnötig, sondern sogar als verderblich. Es genügte, durch eine kräftig gärende Zucht, in welcher der *Vibrion butyrique* sich reichlich vermehrt hatte, durch eine oder zwei Stunden Luft hindurchstreichen zu lassen, um dessen Vernichtung (oder besser gesagt Bewegungslosigkeit und Erstarrung) herbeizuführen und Stockung der Gärung eintreten zu sehen.

Das ablehnende Verhalten von anaeroben Organismen gegen Sauerstoff hat Pasteur dann durch eine sehr einfache Beobachtung in einem Tropfen gärender Flüssigkeit unter dem Mikroskope bestätigt: Die Bazillen behalten ihre Beweglichkeit nur im Zentrum des Präparates bei; je näher die Zellen zum Rande des (unter einem Deckglas liegenden) Tropfens, d. h. zur Berührungsstelle mit der Luft, gelangen, um so langsamer werden ihre Bewegungen, bis sie endlich fast am Rande des Tropfens ganz aufhören. Entsprechend der fortwährend zunehmenden Diffusion des Sauerstoffs ins Innere des Tropfens nimmt auch die Zone der lähmenden Einwirkung des Sauerstoffs allmählich zum Zentrum vorschreitend zu. In einem besonderen Versuche wies Pasteur weiter nach, daß für eine normale Entwicklung der anaeroben Bakterien nicht einmal jene geringe Menge Sauerstoff nötig ist, welche sie im Moment der Beimpfung aufnehmen, in welchem der zu beimpfende Nährboden und die zu übertragenden Zellen mit der Luft in Berührung kommen.

Indem er die Ueberimpfung in seinem zweiteiligen Zuchtrohre unter vollkommenem Abschluß der Luft vornahm, konnte er normale Entwicklung der Mikroben und Gärung des Nährbodens beobachten.

PASTEUR war auch der erste, welcher auf die Bedingungen hinwies, unter welchen die anaeroben Mikroorganismen auch bei Luftzutritt gedeihen können. Zu diesem Zwecke müssen sie mit anderen Bakterien, welche Sauerstoff verbrauchen, vermengt werden. Bei Züchtung in einer hohen Flüssigkeitsschicht entwickeln sich die anaeroben Mikroben in den unteren Schichten des Nährbodens, in denen der Sauerstoffgehalt, dank dem Verbrauch dieses Gases durch die aeroben Mikroben in den oberen Flüssigkeitsschichten, gleich Null ist. Besonders rasch entledigt sich der Nährboden seines Sauerstoffs in dem Falle, wenn in der Flüssigkeit Gärungsvorgänge sich abspielen und die sich hierbei bildenden Gase die Flüssigkeit von unten herauf durchstreichen.

Eine so hochinteressante Tatsache, wie das Gedeihen von Lebewesen ohne freien Sauerstoff es ist, konnte PASTEUR natürlich nicht unerklärt lassen. Worin besteht die biologische Tragweite dieser Erscheinung? Worin äußern sich die physiologischen Vorgänge der Atmung und Ernährung bei diesen Lebewesen, welche einen ganz absonderlichen physiologischen Typus vorstellen?

Von dem Gedanken ausgehend, daß Sauerstoff in der einen oder in der anderen Form eine unumgängliche Lebensbedingung ausmacht, und daß zwischen den verschiedenen Organismen nur ein Unterschied in der Art, in welcher sie diesen Bedarf decken, bestehen kann, teilte PASTEUR sämtliche Kleinlebewesen, entsprechend ihrer Beziehung zum Sauerstoff, in zwei große Klassen ein. Die einen von ihnen, die **aeroben** Mikroorganismen, nützen unmittelbar den Sauerstoff der Luft aus, während die anderen, die **anaeroben** Mikroorganismen, welche ohne freien Sauerstoff leben können, sich diesen aus organischen Substanzen verschaffen, deren Zerfall sie verursachen. Dieser Zerfall von organischen Substanzen, welcher unter Sauerstoffausschluß durch Einwirkung von Mikroorganismen ausgelöst wird, sei eben das, was wir Gärung nennen. PASTEUR hat diesen Gedanken in dem klaren und knappen Satze Ausdruck verliehen: „La fermentation est la vie sans air“, also, „Gärung ist Leben ohne Luft“. Dies war die erste Erklärung der Anaerobiose; vergl. S. 19 u. 20.

Vom Standpunkte der damals herrschenden Doktrin, welche das Leben als einen Vorgang ansah, welcher mit Oxydationserscheinungen unter Mitwirkung freien Sauerstoffes in unmittelbarem Zusammenhange stehe, erschienen die von PASTEUR festgestellten Tatsachen, wie auch dessen Anschauungen über die Anaerobiose in so hohem Grade paradox, daß sie fast überall, insbesondere aber in Deutschland, mit Mißtrauen aufgenommen wurden. Man versuchte, die Ergebnisse der Versuche PASTEUR's durch Beobachtungsfehler, Anwesenheit von Spuren von Sauerstoff in seinen Zuchten, ungenügende Empfindlichkeit der zum Nachweis der Abwesenheit von Sauerstoff verwandten Reagentien usw. zu erklären. Es schien unbegreiflich zu sein, wieso Lebewesen die Luft entbehren könnten; denn ohne diese sei ja der Atmungsprozeß nicht möglich, es komme also nicht zur „physiologischen Verbrennung“, d. h. der Oxydation von organischen Substanzen innerhalb des Körpers. Woher sollten sie die Energie sich verschaffen, die zur Deckung der Verluste des Organismus notwendig ist, welche durch den Stoffwechsel, durch Wachstum und Vermehrung verursacht werden?

Die heftige Polemik, welche über die Frage von der Anaerobiose entbrannte und aus der, wie bekannt, PASTEUR (2) gegen BREFELD (1) und sein Anhänger NENCKI (2) gegen GUNNING (3) als Sieger hervorgingen, dünkt uns jetzt um so mehr als zwecklos, als ja die von PASTEUR 5 festgestellten Tatsachen und die Hypothesen, welche er zu deren Erklärung vorschlug, durchaus nichts enthielten, was mit den feststehenden Ansichten über die Lebenserscheinungen nicht in Einklang gebracht werden könnte. Es zwingt uns ja nichts zu der Annahme, daß Oxydationsprozesse die einzige mögliche Quelle der Betriebsenergie lebender 10 Geschöpfe ausmachen; sie können durch jede beliebige chemische Reaktion ersetzt werden, bei welcher Wärmeentwicklung stattfindet und welche infolgedessen als Quelle aktueller Energie dienen kann. Ebenso wie wir im praktischen Leben, wenn wir Energie auslösen wollen, hierzu nicht nur Oxydationsreaktionen, wie Verbrennung von Holz und Kohle, 15 benutzen, sondern zuweilen auch zu anderen chemischen Prozessen, wie z. B. bei der Zersetzung von Sprengstoffen, greifen, so können auch Mikroorganismen die Energie nicht bloß von Oxydationsprozessen, sondern auch von Zersetzungsreaktionen ausnutzen. Diese energetische Auffassung der Lebenserscheinungen, welche auch PASTEUR vertrat, unter- 20 stellt auf den ersten Blick so verschiedene Prozesse, wie die Vorgänge des aeroben und des anaeroben Lebens es sind, ein und derselben Grundauffassung. Hier wie dort wird Energie ausgelöst, welche für das Wachstum und die Vermehrung notwendig ist. Ein Unterschied besteht nur in der verschiedenen Art der Gewinnung von Energie. Diejenigen 25 Mikroorganismen, welche sich durch Zersetzung von komplizierten organischen Substanzen Energie verschaffen können, werden infolgedessen natürlich vom freien Sauerstoff und von den Oxydationsvorgängen unabhängig und zu anaerobem Leben fähig sein.

Trotzdem die Anaerobiose eine der interessantesten biologischen 30 Fragen darstellt, waren fast alle hierher gehörigen Untersuchungen, welche nach den ersten Veröffentlichungen PASTEUR's vorgenommen wurden, der bloßen Beschreibung von anaeroben Mikroorganismen und deren Rolle im praktischen Leben gewidmet; hingegen wurde die Frage nach dem Wesen dieser Erscheinung gar nicht berührt.

35 Es erwies sich, daß anaerobe Bakterien in der Natur sehr weit verbreitet sind. Man fand sie in überaus großer Menge überall vor, in tiefen Bodenschichten, im Sumpfschlamm, im Dünger, in den Exkrementen, mit einem Wort überall, wo Zersetzungen organischer Substanzen unter Luftabschluß oder bei erschwertem Luftzutritt statt- 40 finden.

Je reicher unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete wurden, desto mehr wuchs das Interesse für diese eigenartigen Zersetzungserreger an, welche im Haushalte der Natur durchaus nicht die letzte Rolle spielen. Ganz besonders wurde es durch jene Arbeiten gefördert, welche nach- 45 wiesen, daß einige pathogene Bakterien, wie z. B. der Bazillus des malignen Oedems (*Bac. oedematis maligni*), der Rauschbrandbazillus (s. Bd. II, S. 118) und der Erreger des Starrkrampfes (*Bacillus tetani*), in diese Gruppe von Lebewesen gehören. Auf diese Weise wurden die vielen Forscher, welche sich mit Fragen der praktischen Medizin be- 50 schäftigen, auf dieses neue Gebiet des menschlichen Wissens aufmerksam gemacht. Von nicht minderer Bedeutung waren in dieser Beziehung die Untersuchungen, welche die Rolle der anaeroben Bakterien bei der Zersetzung organischer Substanzen (Cellulose u. a. m.) im Boden, im

Mist, in der Milch usw. zum Gegenstande hatten und insbesondere die Landwirte interessieren mußten, wie auch die Untersuchungen, welche das Mitspiel anaerober Organismen bei technischen Prozessen (Rotte der Gespinnstfasern, Tabakgärung u. a.) nachwiesen.

Diese Anhäufung von Tatsachenmaterial konnte auf unsere Kenntnisse von den Erscheinungen der Anaerobiose nicht ohne Einfluß bleiben. Sie lieferten die Grundlagen für eine Zusammenfassung und für eine allgemeine Kennzeichnung der ganzen Gruppe. Einerseits erwies sich, daß es zweifellos absolut anaerobe Organismen gibt, welche also bei vollem Abschluß von freiem Sauerstoff gedeihen können, andererseits aber konnte festgestellt werden, daß die unüberbrückbare Kluft, welche sie scheinbar von den aeroben Organismen trennt, in Wirklichkeit gar nicht vorhanden ist, und daß eine Reihe von Mikroben den Uebergang von der einen Lebensform zur anderen bildet. Hierher gehört die Gruppe der sogen. **fakultativ anaeroben Bakterien,** welche sowohl dem Leben bei Anwesenheit von Sauerstoff, wie auch dem Leben ohne Sauerstoff angepaßt sind und also sozusagen als Bindeglied die Mitte zwischen den sogen. **obligat anaeroben** und den **obligat aeroben** Organismen einnehmen. Hierher gehören von Saprophyten die meisten Fäulnisbakterien, die Milchsäurebakterien, die Hefenpilze und viele andere, von pathogenen Mikroben der Milzbrandbazillus (*Bac. anthracis*), der *Bac. typhi abdominalis,* der *Vibrio cholerae asiaticae,* viele Streptokokken und Staphylokokken u. a. m. Doch auch unter den fakultativ Anaeroben verhalten sich durchaus nicht alle zum Leben ohne Sauerstoff in gleicher Weise. Die einen von ihnen gedeihen vortrefflich bei sehr geringem Sauerstoffgehalt oder sogar in ganz sauerstoffloser Atmosphäre, während andere wieder unter diesen Bedingungen in ihrem Wachstum merklich zurückbleiben, weil ihr Plasma mehr dem Leben in sauerstoffhaltiger Atmosphäre angepaßt ist.

Welche Erklärung konnte man nun diesem verschiedenen Verhalten der Mikroben zu dem ihnen so sehr nötigen Sauerstoffe zugrunde legen? — Man mußte natürlicherweise annehmen, daß die Ausarbeitung des betreffenden Typus von Sauerstoffleben bei Kleinlebewesen durch irgendwelche besondere Eigenschaften ihrer Lebenstätigkeit und vor allem durch den Charakter der von ihnen geleisteten chemischen Arbeit gefördert wird. Eine derartige Erklärung der Anaerobiose gibt P. FRANKLAND (2): „Die Erscheinungen des aeroben Wachstums," schreibt er, „sind natürlich als die normalen anzunehmen, aber bei vielen, durch Bakterien hervorgebrachten Zersetzungen werden so große Mengen von Gasen, besonders Kohlensäure und Wasserstoff, entwickelt, daß aller freie Sauerstoff schnell aus dem Medium entfernt wird, in welchem die Bakterien ihre Wirkung ausüben. Unter solchen Umständen werden alle Bakterien, welche ganz von Sauerstoff abhängen, ihre Lebenskraft entweder ganz verlieren oder doch eine Unterbrechung derselben erfahren, während die, welche sich entweder zeitweise oder dauernd ohne Oxygen erhalten können, sich in großem Vorteile befinden müssen, weil sie ihren Lebensprozeß in dem sauerstofffreien Medium fortsetzen können, welches sie selbst hervorgebracht haben. So wird es verständlich, daß ursprünglich aerobe Organismen, welche gewisse Substanzen unter Entwicklung von Gasen (Kohlensäure, Wasserstoff usw.) zu zersetzen vermögen. so modifiziert werden, daß sie für immer durch längere Zeiträume hindurch den Mangel an Oxygen ertragen, und zuletzt sind einige Formen so stark abgeändert worden, daß sie bei vollständiger Abwesen-

heit des Sauerstoffs zu leben vermögen, mit anderen Worten, sie sind obligat anaerob geworden.“

Ob der Sachverhalt nun in der Tat der gleiche ist, wie ihn FRANKLAND sich denkt, d. h., ob die Anaerobiose das Ergebnis der Gärungs-5 fähigkeit einzelner Mikroorganismen ist, oder ob umgekehrt diese Fähigkeit sich bei ihnen als Folge der Anpassung ihres Plasmas an Ernährung mit gebundenem Sauerstoff entwickelt hat, ist natürlich schwer zu entscheiden. Eines steht jedenfalls fest, daß nämlich die verschiedenen Typen von Sauerstoffernährung der Mikroorganismen mit tiefgreifenden 10 Veränderungen der von ihnen geleisteten chemischen Arbeit Hand in Hand gehen; dieses kann in der Gruppe der fakultativen Anaeroben besonders leicht beobachtet werden. So büßten z. B. nach Angaben von SELLARDS (1) sämtliche sieben von ihm untersuchten fakultativen Anaeroben, welche unter aeroben Bedingungen Gelatine rasch ver-15 flüssigten, diese Fähigkeit bei Anaerobiose (s. Bd. III, S. 125) vollkommen ein, obgleich ihr Wachstum in beiden Fällen ein gleich üppiges war. Ebenso verlor Hefe unter Abschluß von freiem Sauerstoff die Fähigkeit Rohrzucker zu invertieren (vergl. Bd. IV, S. 411). Die allmähliche Verminderung des Sauerstoffdruckes wirkt zufolge PORODKO (1) 20 gleichfalls auf die einzelnen Funktionen der Mikroorganismen ein: „Zuerst erlischt die Fähigkeit der Farbstoffbildung bei den Bakterien und die der Sporenbildung bei den Schimmelpilzen. Die Wachstumsfähigkeit dagegen läßt sich bei einem bedeutend tieferliegenden Sauerstoffdrucke sistieren. Noch tiefer liegt die Grenze für die Lebens-25 fähigkeit des Organismus. Auf diese Weise hat jede Funktion des Organismus ihre untere Sauerstoffdruckgrenze.“

Da uns leider positive Anhaltspunkte fehlen, so sind wir fürs erste nicht imstande, in das Wesen der Anaerobiose tiefer einzudringen und von ihr eine annehmbare physiologische Erklärung zu geben. Wir 30 haben eine Reihe von Fragen von hervorragendster Bedeutung, welche gegenwärtig noch der Beantwortung harren, vor uns. Wir wissen nicht einmal, worin sich die verderbliche Wirkung äußert, welche der Sauerstoff auf anaerobe Mikroorganismen ausübt, ob er, ebenso wie andere Gifte, direkt auf ihr Plasma einwirkt, oder aber vielleicht nur gewisse, uns 35 unbekannte chemische Umwandlungen, welche den Lebensfunktionen dieser eigenartigen Lebewesen zugrunde liegen, hemmt. Es ist uns ferner unbekannt, in welcher Form die anaeroben Mikroorganismen den ihnen zum Aufbau von Eiweiß erforderlichen Sauerstoff aus komplizierten organischen Verbindungen abspalten, ob in Form von freiem Sauerstoff, 40 oder als Hydroxylgruppe, oder in irgend einem anderen, komplizierteren Zustande. Ebenso unzureichend sind unsere Anhaltspunkte für die Beurteilung der Frage, ob alle organischen Stoffe, welche das aerobe Leben der Mikroben zu unterhalten vermögen, auch bei Sauerstoffausschluß imstande sind, die zum Aufbau aktiven Eiweißes erforderlichen Atom-45 gruppen abgegeben. Sind wir endlich berechtigt, die Befähigung gewisser Mikroben zu anaerober Existenz mit irgend welchen besonderen Eigenschaften ihres Plasmas in Zusammenhang zu bringen? Es ist auch in der Tat der Versuch gemacht worden, die Anaerobiose zu der Reduktionsfähigkeit der Mikroorganismen, dank welcher sie sich den erforder-50 lichen Sauerstoff durch Reduktionsprozesse (Desoxydation) verschaffen können, in Beziehung zu stellen, ganz analog der Verbrennung von Kohle ohne freien Sauerstoff nur mittelst Reduktion verschiedener Oxyde. Tatsächlich reduzieren in den meisten Fällen anaerobe Bakterien stärker

als die aeroben, ebenso bei fakultativen Anaeroben die anaerob gezüchteten. Dieser Zusammenhang ist jedoch ein rein äußerlicher, und wir wissen derzeit schon, daß es einerseits anaerobe Mikroorganismen gibt, welche nur ganz geringe Reduktionsfähigkeit besitzen (z. B. der Rauschbrandbazillus), daß dagegen viele aerobe Mikroben sogar bei ausgiebiger Sauerstoffzufuhr energisch reduzierend wirken.

Erst nach Lösung der hier angedeuteten offenen Fragen dürfen wir darauf rechnen, in der Ergründung der verwickelten Erscheinung der Anaerobiose weiter vorzudringen. Die bis jetzt gemachten Versuche bezwecken jedoch fast ausschließlich nur das Studium der quantitativen Verhältnisse, d. h. des relativen Bedürfnisses der einzelnen Mikroorganismen oder Gruppen von Mikroorganismen an freiem Sauerstoff.

Schon Pasteur hat gezeigt, wie sehr empfindlich gewisse Mikroben gegen Sauerstoff sind, und wie fein sie in einer Zucht eine dem herrschenden Sauerstoffgehalte und ihrer Beziehung zu diesem Elemente entsprechende Lage einzunehmen trachten. Im Jahre 1887 hat dann S. Winogradsky (1) das eigenartige Verhalten der Schwefelbakterien, insbesondere der Beggiatoen (s. 8. Kap. d. III. Bds.), zum Sauerstoff beschrieben. Obwohl diese Organismen zu den aeroben Bakterien gehören, entwickeln sie sich doch stets in einiger Entfernung von der Oberfläche der Flüssigkeit, dort, wo der Sauerstoffgehalt ein geringerer ist. Dieses Verhalten ist dadurch zu erklären, daß die Schwefelbakterien für ihr Gedeihen sowohl des Sauerstoffs als auch des Schwefelwasserstoffes bedürfen, daß aber diese Gase einander sozusagen gegenseitig ausschließen, weil der Schwefelwasserstoff sofort durch den Sauerstoff rein chemisch oxydiert wird. Die Schwefelbakterien wählen infolgedessen als Aufenthaltsort in der Zucht diejenige Schicht aus, in welcher der von der Oberfläche auf dem Wege der Lösung nach unten eindringende Sauerstoff und der von unten aufsteigende Schwefelwasserstoff zusammentreffen, also das Gebiet des verminderten Gehaltes an beiden Gasen. Aus dem Gesagten geht deutlich hervor, daß die Ursache der verschiedenen Bakterienlagerung in den Zuchten in physiologischer Beziehung eine ziemlich komplizierte ist, und daß man aus ihr nur schwer auf das relative Bedürfnis der einzelnen Mikroorganismen an freiem Sauerstoff mit Gewißheit schließen kann.

Im Jahre 1893 hat Beijerinck (1) die Bildung eines ähnlichen **„Bakterienniveau“** in hoher Flüssigkeitsschicht bei einem besonderen saprophyten Mikroben, dem *Bacillus perlibratus*, beschrieben, welcher sich in Aufgüssen der Samen von *Phaseolus vulgaris* entwickelt hatte. In Versuchen mit Reinzuchten verschiedener Bakterien beschickte Beijerinck die Reagensgläser mit einer geringen Menge sterilisierter Nährgelatine, goß Wasser darüber und führte dann die Impfung aus. Die anaeroben Mikroorganismen brachten unter diesen Bedingungen eine gleichmäßige Trübung der Flüßigkeit in einiger Entfernung von der Oberfläche zustande, welche der Zone des für den betreffenden Mikroorganismus maximalen Sauerstoffgehaltes entsprach. Indem er die Art der Ansammlung von anaeroben Bakterien mit Eigenbewegung in einem Flüssigkeitstropfen (die sogen. Atmungsfiguren; vergl. S. 478) studierte, stellte Beijerinck fest, daß die Bakterien sich nicht an dem vom Tropfenrande entferntesten und folglich gegen Sauerstoffzutritt am meisten geschützten innersten Teile des Tropfens, sondern bloß in einiger Entfernung vom Rande, im Gebiete des verminderten Sauerstoffdruckes, lagern. Dieselbe Erscheinung beobachtete Beijerinck (3) auch bei Arten ohne Eigenbewegung, wozu

er Mischzuchten mit irgend einem aeroben Bakterium benutzte. Auf festen Nährböden, welche in geschmolzenem Zustande gleichmäßig mit dem Bakteriengemisch beimpft worden sind, entwickeln sich die aeroben Bakterien an der Oberfläche, an welcher sie den nach dem Inneren des 5 Nährbodens hinein diffundierenden Sauerstoff verbrauchen, während die anaeroben Bakterien nicht in den untersten Schichten des Nährbodens sondern in einiger Entfernung von der Oberfläche wuchern. Diese Beobachtungen, sowie diejenige über Entwicklung von Anaeroben, welche Buttersäuregärung verursachen, berechtigten BEIJERINCK (2) zu dem 10 Schlusse, daß die anaeroben Bakterien durchaus nicht als aerophobe anzusehen sind, sondern daß für sie die Anwesenheit von Sauerstoff dann förderlich ist, wenn der Gehalt an diesem Gase einen gewissen, sehr niedrigen Partialdruck nicht übersteigt, und daß sie darum richtiger als **„mikroaerophile“** Bakterien zu bezeichnen sind. Die aeroben Mikro- 15 organismen schlägt BEIJERINCK vor als **Aerophile** zu bezeichnen. Den Ansichten BEIJERINCK's über die Anaerobiose haben sich in neuester Zeit FERMI und BASSU (2) angeschlossen. Wie erstgenannter Autor, nehmen auch sie an, „daß, wie für die verschiedenen Arten der obligaten Aeroben der zur Entwicklung notwendige Spannungsgrad des freien Sauerstoffs 20 verschieden ist, so auch für die Anaeroben ein Optimum der Spannung besteht, in welchem sie sich vorzugsweise entwickeln, wie dies in bezug auf die Temperatur, das Licht, die Konzentration der Nährsubstrate, die Menge der Salze, des Wassers usw. der Fall ist.“

Wir werden auf S. 587 noch zu der Ansicht BEIJERINCK's über 25 Anaerobiose zurückkehren; jetzt aber wollen wir den Untersuchungen CHUDJAKOW's (1), welche im Jahre 1895 in russischer Sprache veröffentlicht worden sind, uns zuwenden. Als Versuchsobjekte diente ihm eine große Reihe von aeroben und anaeroben Mikroorganismen. Von obligat anaeroben Bakterien nahm er *Clostridium butyricum* PRAŹM., *Bactridium butyricum* 30 (durch ihn selbst aufgefunden), *Bac. tetani*, *Bac. oedematis maligni* und den Rauschbrandbazillus, von fakultativ anaeroben Mikroorganismen aber *Clostridium viscosum* (durch ihn selbst rein gezüchtet) und Hefenpilze, von aeroben Mikroorganismen *Bac. subtilis*, *Aspergillus niger* u. a. Die meisten Versuche wurden in einem besonderen Apparate angestellt, welcher aus 35 einer großen, oben mit Tubulus versehenen Glasglocke mit abgeschliffenem unteren Rande bestand, der sich einer ebenso abgeschliffenen Glasplatte gasdicht anschloß. Aus der Glocke konnte die Luft entweder zum Teil, bis zu einem bestimmten Drucke, oder vollständig ausgepumpt werden. Um den in den Nährböden gelösten Sauerstoff zu entfernen, 40 wurde der Apparat auf 40° erwärmt, wobei die Flüssigkeiten in der Luftleere zu kochen begannen.

Nachdem CHUDJAKOW den schon durch PASTEUR erhobenen Befund bestätigt hatte, demzufolge der Sauerstoff der Luft die Gärung in sehr kurzer Zeit, in 2—3 Stunden, hemmt, wobei die Leistung um 70—90 45 Proz. herabgesetzt wird, versuchte er zu entscheiden, worin denn eigentlich die Einwirkung des Sauerstoffes auf Bakterien besteht, ob dieser sie tötet oder ob er nur deren Lebenskraft mindert. Zu diesem Zwecke wurden zwei gleiche, Fleischpeptongelatine enthaltende Röhrchen mit einer jungen, sporenlosen Zucht von *Bactr. butyricum* beimpft, dann die 50 eine anaerob (Kontrolle) behandelt, während die andere verschieden lange Zeit hindurch der Einwirkung der Luft ausgesetzt wurde, schließlich wurde deren Entwicklungsfähigkeit verglichen. Wie zu erwarten war, erwies sich die **Giftwirkung des Sauerstoffes** um so heftiger, je

länger die Zucht mit der Luft in Berührung gekommen war, und zwar äußerte sie sich anfangs in einer Verminderung der Lebenstätigkeit der Bakterien oder im Absterben der weniger lebensfähigen. Eine durch 15 Stunden andauernde Einwirkung der Luft erwies sich für eine junge sporenlose Zucht des *Bactr. butyricum*, welches von allen untersuchten Bakterien am strengsten an anaerobe Lebensverhältnisse angepaßt war, als unfehlbar tödlich. Die Sporen waren viel widerstandsfähiger; sogar nach 265 Tage langem Liegen an der Luft waren sie bloß abgeschwächt, aber nicht getötet.

Wovon hängt nun die Giftwirkung der Luft auf anaerobe Bakterien ab? Spielen hier nur die Eigenschaften des Mikrobenplasmas oder vielleicht auch andere, der Zucht anhaftende Einflüsse, so z. B. die Beschaffenheit des Nährbodens, eine Rolle? Es konnte angenommen werden, daß ein Organismus, welcher in dem einen Nährboden sich als streng anaerob verhält, in einem anderen Nährboden bis zu einer gewissen Grenze sich an ein Leben in sauerstoffhaltiger Atmosphäre gewöhnen könne. Es wurden zwecks Entscheidung dieser Frage von CHUDJAKOW mehr als 100 verschiedene Arten von Nährlösungen geprüft; jedoch in keiner konnten anaerobe Bakterien bei unbegrenztem Zutreten von Luft gedeihen. Es schien also erwiesen zu sein, daß der Sauerstoff der Luft unabhängig von der Zusammensetzung des Nährbodens die Entwicklung anaerober Bakterien vollständig hemmt, bei langer Einwirkung aber sogar deren Tod verursacht. Diese Schlußfolgerung kann jedoch in derart unbedingter Fassung nicht aufrecht erhalten werden. Im Gegenteil, auf Grund aller uns bisher bekannten Tatsachen müssen wir anerkennen, daß zwischen dem Typus des Sauerstofflebens eines Mikroben und den allgemeinen Bedingungen seiner Ernährung zweifellos ein Zusammenhang besteht. Gegenwärtig gilt als erwiesen, daß die Größe der Empfindlichkeit der einzelnen Mikroorganismen gegen die Höchstkonzentration an Sauerstoff sich innerhalb gewisser Grenzen in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährbodens ändert. Wir wissen ferner, daß die fakultativen Anaeroben nur in bestimmten Nährsubstraten bei Sauerstoffmangel sich zu vermehren und gewisse organische Stoffe zu zersetzen vermögen. So vergärt nach den Versuchen OMELIANSKI's (2) das *Bact. formicicum* unter streng anaeroben Bedingungen mit Leichtigkeit ameisensaure Salze, wenn sie in Bouillon gelöst sind, nicht aber wenn sie sich in Lösungen von Mineralsalzen befinden; in letzterem Falle ist Gegenwart freien Sauerstoffes erforderlich, damit Gärung einsetzen könne. Endlich seien noch die neuesten Untersuchungen TAROZZI's (1) erwähnt, dem es gelang, anaerobe Bakterien bei freiem Luftzutritt zu züchten, sobald er zu dem Nährboden Stückchen von parenchymatösen Organen hinzusetzte. Näheres darüber auf S. 592. Alle diese Tatsachen zwingen uns zu der Auffassung, daß die Beziehungen der Mikroben zum Sauerstoff je nach den allgemeinen Züchtungsbedingungen in ziemlich weiten Grenzen variieren können.

Weiterhin stellte sich CHUDJAKOW die Aufgabe, festzustellen, welchen Einfluß die allmähliche Herabsetzung des Sauerstoffpartialdruckes auf das Wachstum der Bakterien ausübt. Vor allem war es von Interesse, festzustellen, wie groß der Höchstgehalt an Sauerstoff ist, welcher die Entwicklung der den anaeroben Lebensbedingungen am besten angepaßten Mikroben nicht mehr beeinträchtigt, und ob er für sämtliche anae Mikroorganismen der gleiche ist. Die Züchtungsversuche mit anae Mikroorganismen in einer bis zum gewünschten Grade verdünnten

wurden in kleinen Kölbchen angestellt, deren Boden **mit einer sehr** dünnen Schicht von Nährlösung bedeckt wurde; letztere **Vorsichtsmaßregel** wurde ergriffen, um nach Möglichkeit die **gleichmäßige Diffusion** des Sauerstoffes in die ganze Flüssigkeitsschicht zu fördern. Die Ver-
5 suche ergaben, daß in der Tat die verderbliche Wirkung **des Sauerstoffes** seinem zu hohen Gehalt in der umgebenden Atmosphäre **zuzuschreiben** ist, und daß für einen jeden Mikroorganismus ein **gewisser Höchstgehalt an Sauerstoff** ermittelt werden kann, der eben noch verderblich wirkt, und daß ein niedrigerer Gehalt die Entwicklung der
10 betreffenden anaeroben Bakterien nicht mehr hemmt. Die **Ergebnisse** der Versuche sind in nachfolgender Tabelle zusammengefaßt:

	Bactridium butyricum	*Clostridium butyricum*	*Bacillus oedematis maligni*	*Bacillus tetani*	**Rauschbrandbazillus**
Höchstgehalt an Sauerstoff (in Proz.), bei welchem der betreffende Spaltpilz noch gedeihen kann:	0,13	0,27	0,65	0,65 (höher?)	1,04
Sauerstoffmenge in Proz., welche die Entwicklung des Spaltpilzes hemmt, aber selbst bei langer Einwirkung (im Laufe von 10 Tagen) dessen Tod nicht verursacht:	0,2—0,5	0,69	?	?	?

Die geprüften saprophytischen Bakterien erwiesen sich also **als gegen** Sauerstoff empfindlicher als die pathogenen. Der Höchstgehalt **an Sauerstoff**, bei welchem sich das *Bactr. butyricum* noch entwickeln **kann**, be-
15 trägt 0,13 Proz., was einem Luftdruck von 5 mm entspricht. Die genannten pathogenen Bakterien gedeihen noch bei einem Sauerstoffgehalt von 0,65 Proz. (entsprechend 25 mm Druck), einige von ihnen, wie der Rauschbrandbazillus, sogar bei einem Gehalt von 1,05 Proz. Sauerstoff (entsprechend 40 mm Druck). Die angegebenen Höchstwerte
20 sind, wenigstens für die pathogenen Bakterienarten, sehr vorsichtig angesetzt worden und wahrscheinlich niedriger als die tatsächlichen. Die größere Empfindlichkeit der saprophytischen Bakterienarten gegen Sauerstoff äußert sich auch in Zuchten in hoher Gelatine- oder Agar-Schicht. Die letzteren entwickeln sich unter diesen Bedingungen gar nicht,
25 während die pathogenen, insbesondere der *Bac. tetani*, in den untersten Schichten des Nährbodens wuchern, wo der Partialdruck des Sauerstoffes ein geringerer ist.

Wie verhalten sich nun die **anaeroben Bakterien** zum **Sauerstoff**, wenn er bis zu einem ihr Leben nicht gefährdenden Grade **verdünnt** ist?
30 Stellt dieses Gas einen für sie chemisch indifferenten Körper dar, welcher deren anaerobes Wachstum nicht hemmt, oder können vielleicht unter diesen Bedingungen die anaeroben Mikroorganismen den Sauerstoff beim Atmungsvorgange ausnutzen, und führen sie hierbei ein Sauerstoffleben? Zwecks Entscheidung dieser Frage wurde von Chudjakow das *Clostridium*

butyricum in einer geringen Menge von Nährflüssigkeit gezüchtet, welche in einen großen Kolben gegossen worden war, in dem die Luft bis auf 10 mm Druck verdünnt wurde. Nach Ablauf von 10—12 Tagen wurde das im Kolben enthaltene Gasgemisch mit reduziertem Indigokarmin auf seinen Sauerstoffgehalt untersucht, wobei das Ergebnis ein vollständig negatives war. Die Versuche erforderten ziemlich komplizierte Apparate, von deren Beschreibung wir absehen; außerdem wurde durch eine Reihe von Kontrolluntersuchungen nachgewiesen, daß der Sauerstoff nicht etwa zur chemischen Oxydation verschiedener in der Nährlösung enthaltener Substanzen gedient hatte. Aus diesen Versuchen ging die hoch interessante Tatsache hervor, daß in schwach sauerstoffhaltiger Umgebung sogar streng obligat anaerobe Mikroorganismen, wenigstens bis zu einer gewissen Grenze, ein Sauerstoffleben führen, d. h. beim Atmungsvorgange Sauerstoff verbrauchen können. Hier taucht unwillkürlich der Zweifel auf, ob auch in der Tat das Bedürfnis der Mikroorganismen an Oxydationsprozessen durch eine so minimale Menge freien Sauerstoffes befriedigt werden kann? Nach BEIJERINCK's (5) Meinung wirken diese minimalen Mengen freien Sauerstoffes, welche zuweilen selbst durch die empfindlichsten Sauerstoffreagentien nicht nachgewiesen werden können, als Reizsauerstoff („oxygène d'excitation") und sind für das normale Gedeihen sowie für die Lebensäußerungen anaerober Bakterien durchaus erforderlich. In dieser Hinsicht ist der Unterschied zwischen aeroben und anaeroben Organismen nur ein quantitativer: während die aeroben Bakterien größerer Mengen dieses Reizmittels bedürfen, begnügen sich die Anaerobien mit einer minimalen Menge desselben.

Als bemerkenswert ist noch zu erwähnen, daß diese niedrigen Sauerstoffkonzentrationen auch von aeroben Organismen gut vertragen werden. So kann nach Versuchen von CHUDJAKOW der *Aspergillus niger* seinen ganzen Entwicklungskreis, von der Spore bis wieder zur Spore, in einer Atmosphäre durchlaufen, die nur 0,13 Proz. Sauerstoff (entsprechend 5 mm Druck) enthält. Bei so geringem Sauerstoffgehalt (5—10 mm) ist also ein gleichzeitiges und zudem aerobes Leben sowohl von aeroben als auch von obligat anaeroben Organismen möglich.

Wie wir das bei anaeroben Bakterien sehen, existiert auch für **aerobe** Organismen eine gewisse **oberste Grenze der Sauerstoffkonzentration**, jenseits welcher dieses Gas giftig auf sie einwirkt. So geht z. B. der *Bac. subtilis* bei einem Druck von 10—15 at zu Grunde. Eine sehr interessante Ergänzung zu den obenerwähnten Ergebnissen CHUDJAKOW's findet man in der Arbeit von PORODKO (1), welche die Bestimmung der Sauerstoffmaxima und Sauerstoffminima für eine Reihe von aeroben und fakultativ anaeroben Mikroorganismen zum Gegenstande hat. Einige Ergebnisse dieser Arbeit haben wir in folgender Tabelle zusammengestellt:

Mikroorganismen	Sauerstoffmaximum in Atmosphären	Sauerstoffminimum in Vol.-Proz.
Schwefelbakterien NATHANSOHN's (s. Bd. III, S. 239)	0,676—0,810	?
Rosahefe	1,68 —1,94	0,00016—0,06
Bac. fluorescens liquefaciens	1,94 —2,51	„
Sarcina lutea	2,51 —3,18	„

Mikroorganismen	Sauerstoffmaximum in Atmosphären	Sauerstoffminimum in Vol.-Proz.
Penicillium glaucum	3,22—3,63	0,06—0,66
Bac. subtilis	3,18—3,88	0—0,00016
Proteus vulgaris	3,63—4,35	0
Bact. coli commune	4,09—4,84	„
Bac. prodigiosus	5,45—6,32	„
Bac. ε, fakultativ-anaerob, aus Erde gezüchtet	9,38— ?	„

Wir sehen also, daß jeder Mikroorganismus sein eigenes Sauerstoffmaximum und Sauerstoffminimum hat, und daß die Spannweite für die einzelnen Organismen, d. h. der Abstand zwischen oberer und unterer Grenze der von ihnen vertragenen Sauerstoffkonzentration, ebensogut 5 wie deren absolute Höhe eine spezifische Eigenschaft ist.

Der Höchstgehalt an Sauerstoff, unterhalb dessen dieses Gas die Entwicklung der einzelnen Organismen nicht hemmt, ist jedoch nicht als beständiges Artmerkmal anzusehen. Er hängt in bedeutendem Maße auch von der Beschaffenheit des Nährbodens ab und kann zudem durch 10 allmähliches Angewöhnen der Mikroben an fortschreitend gesteigerte Mengen dieses Gases leicht um ein Bedeutendes erhöht werden. Indem CHUDJAKOW das *Bactridium butyricum* anfangs bei 5 mm, dann höher gehend bei 10, 15, 20, 25 usw. mm Luftdruck züchtete, kam er so weit, daß nach 5 Monaten dieses Bakterium bei 50 mm Druck, d. h. bei einem 15 zehnmal stärkeren Sauerstoffgehalt, als der anfängliche es war, gut gedieh. Ebenso ist es ROSENTHAL (2) gelungen, durch allmähliches Angewöhnen an fortschreitend gesteigerte Sauerstoffmengen aerobe Zuchten von so streng anaeroben Mikroorganismen, wie der *Bac. botulinus* (VAN ERMENGEM), der Bazillus des Gelenksrheumatismus (ACHALME) und der 20 *Bac. phlegmonis emphysematosae* (LEGROS), zu erzielen. Neuerdings hat ROSENTHAL (3) auf experimentellem Wege den *Vibrion septique* (Oedembazillus) an aerobes Leben gewöhnt. Hierzu genügt es, denselben nach einander in einer Reihe von Reagensgläsern mit stufenweise verringerter Nährflüssigkeitsmenge (abgerahmte Milch) zu züchten. Sobald ROSEN- 25 THAL den Mikroben dazu gebracht hatte, in ganz niedriger Flüssigkeitsschicht zu wachsen, gelang es ihm, auch bei weiterem Ueberimpfen auf schrägen Agar anfangs schwaches, späterhin aber sogar ziemlich üppiges Wachstum zu erzielen.

Eine ähnliche **Angewöhnung von anaeroben Mikroben an Sauer- 30 stoff** findet wahrscheinlich zuweilen auch in der Natur unter den mannigfaltigen Einwirkungen statt, denen jene bei ihrer Entwicklung ausgesetzt sind. In der Tat sind Bakterienformen ein und derselben Art beschrieben worden, welche gleichsam den Uebergang vom anaeroben zum aeroben Leben bilden. Bei reichlicher Anlegung von Zuchten 35 des Rauschbrandbazillus fand KITT (1) unter ihnen auch solche, welche bei Luftzutritt zu gedeihen vermochten. Aus einer derartigen Zucht konnten aerobe Generationen dieses Bazillus erhalten werden. Aehnliche Beobachtungen sind auch an dem *Bac. tetani* durch BRAATZ (1) und durch RIGHI (1) gemacht worden.

40 Welchen Standpunkt sollen wir demnach gegenüber den Erscheinungen der Anaerobiose einnehmen? Zu welchen Schlußfolgerungen berechtigen uns alle oben erwähnten Tatsachen und Beobachtungen? Sollen

wir die frühere Einteilung der Mikroben in aerobe und anaerobe beibehalten, oder müssen wir auf Grund der neuesten Feststellungen die beiden Gruppen durch sonstige Merkmale charakterisieren und vielleicht sogar die frühere Einteilung ganz aufgeben? — Diese letztere Forderung stellt BEIJERINCK auf, welcher vorschlägt, die nach seiner Meinung veraltete Sonderung der Mikroben in aerobe und anaerobe durch eine neue, unseren derzeitigen Kenntnissen auf diesem Gebiete besser entsprechende Einteilung in **aerophile** und **mikroaerophile** Organismen zu ersetzen. Jedoch ganz abgesehen von den Nachteilen, welche die Abänderung einer feststehenden und allgemein angenommenen Terminologie mit sich bringt, ist dieser Vorschlag auch aus dem Grunde wohl kaum als zutreffend anzusehen, als ja das Bedürfnis nach einer derartigen Aenderung noch gar nicht gereift ist. Um die anaeroben Bakterien als mikroaerophile Organismen anzusehen, müßte man annehmen, daß als physiologisch normaler Zustand für sie das Leben bei niedrigem Sauerstoffdruck und nicht unter Bedingungen strenger Anaerobiose zu gelten hat; dieses ist jedoch weder durch die verschiedene Auslegung zulassenden Ergebnisse der Versuche BEIJERINCK's noch auch durch die späteren Versuche CHUDJAKOW's erwiesen worden. Von dem Befunde, daß das Leben der anaeroben Bakterien bei geringem Sauerstoffgehalte der Luft noch möglich ist, ist es noch sehr weit bis zu der Annahme, daß eben diese Verhältnisse die für sie physiologisch normalen sind und daß eine vollständige Anaerobiose nicht besser für ihre Existenzbedingungen passe. Wenn CHUDJAKOW in seinen oben wiedergegebenen Versuchen Sauerstoffverbrauch durch anaerobe Bakterien beobachtete, so ist hierdurch noch nicht dargetan, daß die den anaeroben Bakterien eigene und sie auszeichnende Spaltungsatmung durch den normalen Atmungsvorgang ersetzt werden könne. Der einzige Schluß, den man auf Grund dieser Untersuchungen ziehen kann, besteht darin, daß die sogen. obligat anaeroben Mikroorganismen zweifellos die Fähigkeit besitzen, bei geringstem Partialdruck des Sauerstoffes zu leben und sich zu entwickeln, so daß sie sich in dieser Beziehung den fakultativ anaeroben Lebewesen nähern und sich von diesen nur durch ein besonders niedriges Sauerstoffmaximum unterscheiden.

Es ist also nicht einzusehen, weshalb wir die allgemein übliche Terminologie fallen lassen sollten. Unter **aeroben** Organismen müssen wir demnach solche verstehen, welche die für ihr Gedeihen notwendige Energie durch Oxydationsreaktionen unter Mitwirkung von freiem Luftsauerstoff gewinnen, während wir in die Gruppe der **anaeroben** Mikroben diejenigen einreihen, welche ganz ohne freien Sauerstoff normal leben und sich entwickeln können, indem sie sich die ihnen nötige Betriebsenergie durch exothermische Zersetzungsreaktionen verschaffen. Für aerobe Bakterien, wenigstens für die ausgeprägten Vertreter dieser Gruppe, ist ein Leben ohne Oxydationsprozesse ganz undenkbar. Wir können uns z. B. ein anaerobes Leben von nitrifizierenden Organismen, deren Protoplasma der Leistung oxydierender Arbeit so streng angepaßt ist, gar nicht vorstellen. Hingegen vermögen anaerobe Organismen in einer endlosen Reihe von Generationen ganz ohne freien Sauerstoff sich vollständig normal zu entwickeln; für sie existiert keine untere Grenze des Sauerstoffgehaltes (in der umgebenden Atmosphäre), jenseits welc ihr Leben undenkbar wäre.

Nachdem wir diese Grundmerkmale, dank welchen zwischen äußersten Vorbildern des aeroben und anaeroben Lebens eine scl

Grenze gezogen werden kann, hervorgehoben haben, müssen wir auch die Merkmale aufzählen, welche diesen Unterschied in gewissem Maße verwischen. Eines von diesen Merkmalen ist die selbst den strengsten Anaeroben zukommende Fähigkeit, bei niedrigem Sauerstoffgehalt zu
5 gedeihen und dieses Gas hierbei zu verbrauchen, eine Fähigkeit, die durch allmähliches Angewöhnen um ein Beträchtliches gesteigert werden kann. Andererseits wird der Unterschied zwischen Aeroben und Anaeroben auch dadurch verringert, daß es eine Reihe von Mikroben gibt, deren Protoplasma eine bedeutende physiologische Elastizität besitzt, und die
10 infolgedessen sich in größerem oder geringerem Maße an beide Formen des Lebens anpassen können. Dieses ist die Gruppe der **fakultativen Anaeroben.** Einige von ihnen entwickeln sich bei sehr niedrigem Sauerstoffgehalt oder sogar unter Sauerstoffabschluß (Fäulnis- und Milchsäurebakterien) dem Anscheine nach ganz normal und nähern sich
15 also den streng anaeroben Mikroben. Dieses sind, wie BEIJERINCK (1) sie nennt, die „wahren oder permanenten fakultativen Anaeroben". Einige von ihnen entwickeln sich sogar anaerob üppiger als bei unbehindertem Luftzutritt, so z. B. die thermophilen Bakterien von L. RABINOWITSCH in bei 37° C gehaltenen Zuchten. Andere dagegen
20 sind dem Leben in einer Sauerstoffatmosphäre mehr angepaßt und gehen unter streng anaeroben Verhältnissen rasch zugrunde. Diese sind entsprechend der Terminologie BEIJERINCK's die „temporären Anaeroben", welche sich nur in einer begrenzten Zahl von Generationen anaerob entwickeln können, wobei sie sich mit einer gebundenen Sauerstoff-
25 reserve in ihrem Zelleibe begnügen. Obgleich z. B. die Hefenpilze in ziemlich ausgiebigem Maße die Fähigkeit besitzen, ohne Sauerstoff zu gedeihen, so erscheint dieser Zustand für sie dennoch gleichsam als eine Abweichung von den normalen Lebensbedingungen, welchem sie nicht unbegrenzt lange Zeit ungestraft ausgesetzt werden dürfen. Nach 20 bis
30 30 Zellteilungen bedürfen sie wiederum des Sauerstoffzutritts, ohne welchen sie zugrunde gehen. Den anaeroben Mikroorganismen noch ferner stehen die Schimmelpilze, deren sauerstoffloses Leben alle Anzeichen eines krankhaften Zustandes aufweist. Vollends bei streng aeroben Arten begegnen wir sogar in deren oxydierenden Funktion gewissen Abstufungen der
35 Oxydationskraft. Viele Mikroben mit scharf ausgesprochenen oxydierenden Fähigkeiten können gleichwohl die Oxydationsreaktion nur bis zu einer bestimmten Grenze führen und müssen daher in energetischer Beziehung mit den typischen Erregern anaerober Spaltungsprozesse auf eine Stufe gestellt werden. Hierher gehören beispielsweise die
40 Mikroben, welche Alkohol zu Essigsäure, Ammoniak zu salpetriger Säure oxydieren usw.

Daß der in der Mikrobenwelt beobachtete Uebergang von obligat anaeroben zu streng aeroben Formen ein ganz allmählicher ist, darauf weisen auch die Zahlen der Sauerstoffmaxima hin, außerhalb welcher
45 das Leben für die einzelnen Arten ausgeschlossen ist. Von den strengsten saprophytischen Anaeroben (*Bactridium butyricum*, *Clostridium butyricum*) beginnend, welche nur bei Sauerstoffspannungen, die nicht über 0,001 bis 0,003 at reichen, gedeihen können, gehen wir zu den pathogenen Anaeroben wie z. B. *Bacillus oedematis maligni*, *Bac. tetani* (obere Sauer-
50 stoffgrenze: 0,005 at) und dem Rauschbrandbazillus (0,01 at) über. Weiterhin kommen die Schwefelbakterien WINOGRADSKY's, welche sich nicht bei ausgiebigem Luftzutritt entwickeln können (also steht ihre obere Sauerstoffgrenze unter 0,2 at). Auf diese folgen die Thionsäure-

bakterien NATHANSOHN's mit ihrem Maximum von ca. 0,7 at Sauerstoffdruck. Schließlich kommen wir zu den fakultativ Anaeroben und den obligat Aeroben, bei denen, wie aus den Angaben PORODKO's (1) ersichtlich ist, das nämliche stufenweise Verhalten zum Sauerstoff zu beobachten ist. Obgleich die erwähnten unter verschiedenen Versuchs- 5 bedingungen gewonnenen Werte der oberen Sauerstoffgrenzen für die einzelnen Klassen von Mikroorganismen auch nicht vollkommen untereinander vergleichbar sind, so geben sie uns doch ein ziemlich anschauliches Bild des allmählichen Ueberganges der Typen von aerobem zu anaerobem Leben und beweisen zugleich, daß der Unterschied hier 10 ein weit weniger tiefgreifender ist, als man bisher angenommen hat.

§ 131. Verfahren zur Züchtung luftscheuer Kleinlebewesen.

Die Anzahl der im Laufe der Jahre zur Züchtung anaerober Organismen vorgeschlagenen Apparate ist eine überaus große, wie man aus der Anzahl der am Schlusse dieses Kapitels angeführten Arbeiten 15 ermessen kann, von denen die meisten der Beschreibung von solchen Apparaten gewidmet sind. Der Unterschied zwischen ihnen ist aber manchmal so unbedeutend und bezieht sich nur auf so nebensächliche Einzelheiten, daß es sehr schwer hält, die eine oder die andere Vorrichtung mehr zu empfehlen: die Wahl wäre hier kaum mehr denn 20 Geschmackssache oder Folge bestimmter Laboratoriumsgewohnheiten. Schon die Tatsache, daß von Jahr zu Jahr die Anzahl der zur Züchtung von Anaeroben vorgeschlagenen Apparate eine immer größere wird, beweist, daß eigentlich keiner von ihnen seinem Zwecke vollkommen entspricht, und daß hierin bei weitem noch nicht alle tech- 25 nischen Schwierigkeiten überwunden sind. In der Tat weiß ein jeder, welcher Gelegenheit gehabt hat, auf dem Gebiete der Anaerobiose zu arbeiten, sehr gut, welche Schwierigkeiten derartigen Forschungen im Wege stehen, und dies nicht nur darum, weil wir die Physiologie der anaeroben Lebewesen und die normalen Bedingungen ihrer Entwicklung nicht ge- 30 nügend kennen, sondern in bedeutendem Maße auch wegen der Mängel der Methodik. Dies gilt namentlich von anaeroben Zuchten auf festen Nährmedien, auf denen die Mikroorganismen gewöhnlich ziemlich langsam und spärlich gedeihen, besonders in Strichzuchten.

Alle Apparate und Einrichtungen für anaerobe Züchtung ausführlich 35 zu beschreiben, wäre eine zu umfangreiche Aufgabe; sie scheint uns auch kaum von Nutzen zu sein, um so weniger, als Interessenten eine ziemlich umfassende Uebersicht über die einzelnen Verfahren in den Abhandlungen von FERMI und BASSU (1 u. 2) und von MATZUSCHITA (1) finden können. Wir dürfen uns also hier auf eine kritische Uebersicht 40 der wichtigsten der der anaeroben Züchtung zugrunde liegenden Gedanken und auf die Beschreibung einiger weniger Modelle beschränken, welche mit Vorliebe benutzt werden.

Der allen Verfahren zur Züchtung Anaerober zugrunde liegende Leitgedanke ist selbstverständlich die möglichst vollkommene, schnelle 45 und auf die Dauer durchaus sichere Beseitigung des Luftsauerstoffes aus dem Nährboden und aus dem ihn umgebenden Raume. Es ist jedoch allbekannt, wie schwer eine vollständige Beseitigung der letzten Luftüberreste aus einem geschlossenen Glasgefäße und ein vollkommen sauerstofffreier Raum zu erzielen sind. Der Sauerstoff haftet dem 50

Glase so stark an, daß er vollständig nur bei 300—400° oder, wie z. B. bei der Fabrikation von Röntgenröhren, bei stundenlang fortwährenden starken elektrischen Entladungen unter Erhitzung von demselben entfernt werden kann. Die an sich so schwer zu erfüllende Aufgabe, ein absolutes Sauerstoffvakuum herzustellen, ist unter den Bedingungen, bei welchen bakteriologische Arbeiten stattfinden, überhaupt nicht auszuführen. Zum Glück aber ist dieser Umstand nicht von allzu hohem praktischen Werte, da zum Gedeihen der Anaerobier die verschiedenen Grade von Sauerstoffbeseitigung, welche in den verschiedenen Apparaten erzielt werden, meistens genügen, wenn nur dabei der Sauerstoffpartialdruck bis auf ein gewisses Geringstmaß sinkt. Für gewisse Untersuchungszwecke aber, namentlich für physiologische Arbeiten über den Stoffwechsel der Anaeroben u. dergl., ist es dennoch erwünscht, über ein Verfahren zu verfügen, welches gestattet, mit den gewöhnlichen Hilfsmitteln eines bakteriologischen Laboratoriums die Austreibung des Sauerstoffes aus den Nährböden und den sie aufnehmenden Gefäßen bis an die äußerste Grenze zu führen. Weder das Auspumpen der Luft, noch sauerstoffabsorbierende Mittel, wie alkalische Pyrogallollösung, führen hier mit vollständiger Sicherheit zum Ziele. Man muß vielmehr diese zwei Verfahren vereinigen und dazu noch eine kräftige Wasserdampfentwicklung im Zuchtgefäß hervorrufen, um einer vollständigen Sauerstoffleere näher zu kommen. Doch ohne Gebrauch von Kontrollmitteln, von besonderen, sehr empfindlichen Sauerstoffreagentien, kann man darüber keine Gewißheit erlangen.

Von diesen **Reagentien auf freien Sauerstoff** gibt es eine beträchtliche Anzahl. Wir erwähnen bloß die folgenden vier: 1. Zusatz einiger Tropfen konzentrierter alkoholischer *Methylenblaulösung* zu dem Nährboden. Das Methylenblau entfärbt sich, wenn es sich in völlig sauerstofffreier Umgebung befindet oder mit kräftig reduzierenden Substanzen in Berührung kommt. 2. Zusatz von *Indigokarmin* (neutrales indigschwefelsaures Natrium). Bei Sauerstoffabschluß entfärbt sich dieses Salz allmählich, indem Indigblau in Indigweiß umgewandelt wird. Beide Reagentien werden durch Sauerstoffzutritt von neuem gebläut und können also während der ganzen Beobachtungszeit die Anwesenheit oder die Abwesenheit von Sauerstoff angeben. 3. Eine sehr empfindliche Sauerstoffreaktion ist die durch dieses Gas bewirkte Bläuung des weißen *Ferroferrocyanürs* ($Fe_2Fe(C_6N_6$ oder FeC_2N_2) oder die Bläuung eines mit *Ferrocyankalium* getränkten Papierstreifens durch eine Eisenoxydullösung. 4. Zum Nachweis von Spuren freien Sauerstoffes kann man auch zu dem zu untersuchenden Nährboden zuerst einige Tropfen einer vorher ausgekochten *Pyrogallollösung* und sodann ein Stück Kalihydrat hinzusetzen, welches vorher in einem Vaselin und Paraffin enthaltenden Gefäße erwärmt worden war; vergl. FERMI und BASSU (1). Bei Gegenwart von Sauerstoff nimmt dann der Nährboden dunkle Färbung an. Die beiden letzten Indikatoren sind nur einmal zu verwenden und erlangen, nachdem sie die Anwesenheit von Sauerstoff angezeigt haben, ihre ursprünglichen Eigenschaften nicht mehr wieder. Endlich ist noch ein Nachweisverfahren von BEIJERINCK (5) zu erwähnen: minimale Spuren von Sauerstoff, welche schon keines der vier genannten chemischen Reagentien mehr aufzudecken vermag, können mit Hilfe von *Leuchtbakterien* nachgewiesen werden. Wenn man in eine Zucht dieser Bakterien, welche nach völligem Verbrauch des Sauerstoffes bereits aufgehört hat zu leuchten, die zu untersuchende

Flüssigkeit einführt, so genügt in letzterer die Anwesenheit minimaler Spuren von Sauerstoff, um die Kultur von neuem zum Leuchten zu bringen.

Die Verfahren zur Züchtung der Anaerobier können wir je nach ihrem Leitgedanken zu fünf Gruppen sondern: 1. Beschränkung des Luftzutrittes. 2. Züchtung im Vakuum. 3. Absorption des Sauerstoffes durch alkalische Pyrogallollösung und andere sauerstoffgierige Substanzen. 4. Ersatz der Luft durch ein indifferentes Gas. 5. Schützende Wirkung der Aeroben in Mischzuchten. Es werden auch kombinierte Verfahren angewandt, z. B. Herstellung eines Vakuums mit nachträglicher Füllung mit Wasserstoff, bezw. einer Absorption der Sauerstoffreste durch alkalische Pyrogallollösung, usw. Viele Beispiele derartiger kombinierter Verfahren, welche eine möglichst ausgiebige Beseitigung des Sauerstoffes bezwecken, kann man in den Veröffentlichungen von Fermi und Bassu (1 u. 2) und von Stüler (1) finden.

Zum Zwecke der **Beschränkung des Luftzutritts** überschichtete Pasteur die Nährflüssigkeit mit Oel, wodurch der Zutritt von Luft verhindert wurde. Dieses Verfahren, das Nährmittel durch eine schützende Decke abzuschließen, ist mannigfaltig abgeändert worden, um es auch auf die festen Nährböden anwenden zu können. So schlug R. Koch (2) im Jahre 1884 vor, die Gelatineplatte mit einem Glimmerblättchen zu bedecken, was jedoch nach den Erfahrungen von Liborius (1) bei streng anaeroben Bakterien nicht immer genügt. Hingegen hat ein anderer Kunstgriff sich als sehr brauchbar erwiesen, es ist die im Jahre 1885 von Hesse (1) angegebene **Kultur in Höhenschicht**. Man legt in Reagensgläsern eine Stichzucht in Nährgelatine oder Nähragar an und bedeckt sie, nach erfolgter Beimpfung, mit einer Schicht von sterilem, verflüssigtem Nährmittel gleicher Art. Aber auch ohne solche Ueberschichtung, also bei Anwendung von frisch bereiteten oder zuvor aufgewärmten und dadurch verflüssigten Nährböden, gelingt die Höhenschichtkultur insbesondere solcher anaerober Mikroorganismen gut, welche, wie der Tetanusbazillus, keine allzu große Empfindlichkeit gegen Sauerstoff zeigen. Vignal (1) wandte im Jahre 1887 das Verfahren der Höhenschichtkultur auf die sog. Glasröhrenkultur an, wobei der zuvor gut ausgekochte und dann beimpfte feste Nährboden in eine ungefähr ein Meter lange Glasröhre emporgesogen wird, worauf man diese an beiden Enden zuschmilzt. Bei allen Abarten der Höhenschichtkultur stoßen wir aber auf die Schwierigkeit, daß dabei eine genauere Untersuchung einzelner Kolonien und auch die Abimpfung sehr erschwert ist. Ueberaus geschickt hat diese Schwierigkeiten Burri (1) überwunden, indem er beiderseits offene (an dem einen Ende mit einem Kautschukstopfen, am anderen Ende mit einem Wattebausche geschlossene) Röhren verwendet und den aus diesen Röhren herausgeglittenen Agarzylinder in Querschnitte von 1—2 mm Dicke zerlegt. Diese Agarscheibchen werden dann wie gewöhnliche Platten untersucht, und aus ihnen werden Abimpfungen unter Einhaltung besonderer Vorsichtsmaßregeln vorgenommen. Wenn bei Gärversuchen die Gasausscheidung und die Zusammensetzung der sich entwickelnden Gase verfolgt und geprüft werden sollen, kann man nachfolgend beschriebene Vorrichtung (s. *Fig. 84*) benutzen. Man nimmt einen langhalsigen Kolben *A* von erwünschter Größe, welcher mit einem Kautschukstopfen verschlossen ist. Durch letzteren hindurch geht das Gasableitungsrohr, welches mittelst eines Kautschukschlauches mit einem mit Watteverschluß versehenen Reservekolben *B* in Verbindung steht. Dieser letztere dient als Sammelgefäß für die

beim Sterilisieren übertretende Flüssigkeit, welche später wieder in den Kolben *A* zurückgesogen wird. Zum Zwecke der Beimpfung lüftet man den Stopfen ein wenig und führt die Impfung mit Pipette oder Platinöse aus. Um gegen die Diffusion 5 der Luft durch den Kautschukstopfen hindurch gesichert zu sein, kann man Kolben gebrauchen, welche am oberen Ende des Halses eine napf- 10 förmige Erweiterung tragen, welche gestattet, den Gummistopfen mit Quecksilber (*C*) zu bedecken. Nach geschehener Beimpfung entfernt man den 15 Kautschukschlauch und bringt die untere Oeffnung des Schwanenhalsrohres mit einer geeigneten Vorrichtung zum Auffangen und Sammeln der 20 durch die Gärung dann entwickelten Gase in Verbindung.

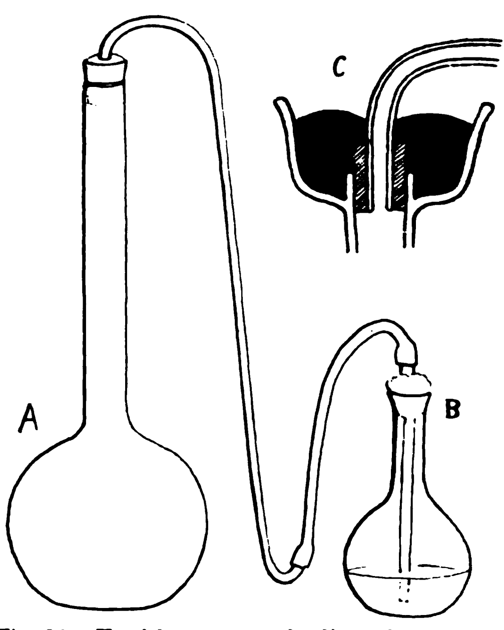


Fig. 84. Vorrichtung zum Studium der Gasentwicklung anaerober Zuchten. — Erklärung im Text.

Das Wachstum der Anaerobier bei Beschränkung des Luftzutrittes geht viel besser von- 25 statten, wenn der Nährboden **reduzierende Substanzen** enthält, welche den von oben hineindiffundierenden Sauerstoff fortwährend absorbieren 30 können. Schon von PASTEUR rührt dieBeobachtung her, daß man das Wachstum anaerober Organismen fördern könne, wenn man dem Nährboden Zucker zusetze. Nun besitzt bekanntlich eine alkalische Lösung von Traubenzucker stark reduzierende Kraft. Diese beiden Tatsachen veranlaßten KITASATO und WEYL (1), zu 35 versuchen, ob andere reduzierende Stoffe von gleich günstiger Wirkung wären. Sie empfahlen dann ganz besonders einen Zusatz von 0,3—0,5 Proz. ameisensauren Natrons oder von 0,1 Proz. indigschwefelsauren Natrons (Indigokarmin). Von sehr guter Wirkung war auch ein Zusatz von 0,1 Proz. Brenzcatechin oder Eikonogen. Ebenso guten Erfolg hat 40 BEIJERINCK (2) mit Natriumhydrosulfit (dem SCHÜTZENBERGER'schen Reagens) erzielt. Dieses Salz ist ein sehr starkes Reduktionsmittel und zersetzt sich beim Sterilisieren nicht. Begünstigend wirken nach TRENKMANN (1) auch Schwefelwasserstoff und Schwefelnatrium (4—10 Tropfen 10-proz. Natriumsulfidlösung in 10 ccm Bouillon). Neuerdings 45 hat HAMMERL (1) zu demselben Zwecke einen Zusatz von Ammoniumsulfhydrat ($NH_4 . SH$) vorgeschlagen, welches stets frisch und keimfrei bereitet werden muß. Aller Wahrscheinlichkeit nach hat TAROZZI (1) die von ihm vor kurzem erzielten Ergebnisse derselben Ursache, d. h. der Einwirkung stark reduzierender Substanzen, zu verdanken. Er konnte 50 normales Wachstum der wichtigsten bekannten anaeroben Mikroorganismen bei unbehindertem Luftzutritt beobachten, sobald er zu gewöhnlicher Bouillon oder gewöhnlichem Agar ein frisches und aseptisch herausgeschnittenes Gewebsstück aus Leber, Milz oder Nieren der üblichen

Versuchstiere (Meerschweinchen, Kaninchen, weiße Maus) hinzusetzte. Ein solcher Nährboden behält nach WRZOSEK (1) seine erwähnten Eigenschaften sogar nach Beseitigung des in ihm enthaltenen Gewebsstückes und energischem Schütteln an der Luft bei. Die Angaben TAROZZI's wurden neuerdings durch Beobachtungen von SMITH, BROWN und WALKER (1) vollkommen bestätigt.

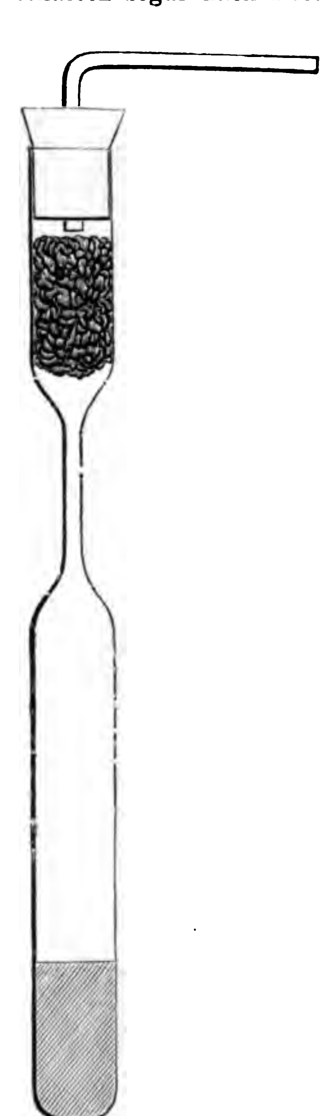


Fig. 85. GRUBER's Röhre zur Züchtung Anaerober. Gebrauchsfertig. — Etwas verkleinert. Nach GRUBER.

Die **Züchtung im Vakuum**, ein gleichfalls in verschiedenen Spielarten angewandtes Verfahren, ist zuerst durch PASTEUR gelegentlich seiner Studien über den *Vibrion septique* erprobt worden und besteht darin, den Sauerstoff bezw. die Luft aus den Gefäßen auszupumpen, welche das mit den Anaeroben beimpfte Nährmittel enthalten. Die durch MAX GRUBER (1) angegebene Abänderung, welche gegenüber der fast gleichzeitig durch E. ROUX (1) vorgeschlagenen Vorrichtung keinen wesentlichen Unterschied darbietet, ist bequem und zuverlässig und hat insbesondere in den gärungsphysiologischen Laboratorien allgemein Aufnahme gefunden. Man gebraucht dazu (s. *Fig. 85*) dickwandige Reagensgläser (ca. 17 cm lang), die in ihrem oberen Drittel an einer Stelle stark verengt sind. Sie enthalten unter Watteverschluß das betreffende Nährmittel in der Menge von ungefähr 10 ccm. Nach erfolgter Beimpfung wird die Röhre in Wasser von ca. 30—35° C eingestellt und mit einer Saugpumpe verbunden. Durch die unter dem verminderten Drucke sich einstellende lebhafte Dampfentwicklung wird alle Luft ausgetrieben, worauf man die Röhre an der Verengung zuschmilzt und deren Kopfstück nun entfernt. Bei Verwendung von Nährgelatine ermöglicht auch dieses Verfahren die Gewinnung von Kolonien, so daß man aus einem Bakteriengemisch die einzelnen anaeroben Arten von einander trennen kann. Zu diesem Zwecke wird der noch warme, flüssige Inhalt der Röhre in eine ESMARCH'sche Rollkultur (s. S. 568) verwandelt, wie *Fig. 86* zeigt. Anaerobe Zucht[illegible] [illegible]ar-toffeln legt E. ROUX (2) in einem gr[illegible] glase mit seitlichem Röhrchen [illegible] unter diesem an (s. *Fig. 87*). [illegible] agensglase wird ein schräg zug[illegible] Kartoffelstück sterilisiert und an [illegible] fläche beimpft. Dann schmilzt man [illegible] dessen oberen Ende zu und saugt die [illegible] durch das Seitenröhrchen ab, bis die letzten Spuren von Sauer[illegible] Kochen des am unteren Ende angesammelten Kondensationswa[illegible] getrieben werden, wonach auch das Seitenröhrchen zugeschmolze[illegible] Um viele Zuchten auf einmal im Vakuum zu halten, stellt man

fäße unter eine geräumige tubulierte Glasglocke, welche luftdicht au eine Glasplatte aufgesetzt wird, oder in einen Exsiccator mit Glashah am Deckel, z. B. nach dem Muster von A. MEYER (1), und saugt dann

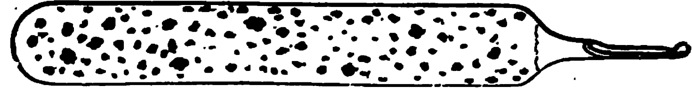


Fig. 86. GRUBER's Anaeroben-Röhre; ausgepumpt, Kopfstück abgeschmolzen, Inhalt z ESMARCH-Kultur gestaltet, darin die Aussaat zu Kolonien herangewachsen. Etwas verkleinert. Nach GRUBER.

die Luft ab. Die Schliffe werden mit einer Mischung von Wachs un 5 Vaselin (1:1 oder 1:2) eingefettet. Zwecks Entfernung der letzte Spuren von Sauerstoff bringt man alkalische Pyrogallollösung (s. weite unten) derart in den Exsiccator hinein, daß die Kalilauge sich mit dem Pyrogallol erst nach dem Auspumpen der Luft vermischen 10 kann.

Die Absorption des Sauerstoffes ist zu dem in Rede stehenden Zwecke ziemlich beliebt. Anstatt die Luft auf mechanischem Wege durch Auspumpen bzw. Verdampfen 15 aus dem Zuchtgefäß zu entfernen, kann man auch zu chemischen Hilfsmitteln greifen, welche den Sauerstoff absorbieren. Man verwendet hierzu gewöhnlich eine Lösung von Pyrogallussäure [$v\text{-}C_6H_3(OH)_3$] in Kali- 20 lauge, welches Gemisch Sauerstoff begierig aufnimmt. Wie bekannt, macht man von ihm in der Gasanalyse schon seit langem Gebrauch. In die Physiologie wurde es durch M. NENCKI (1) im Jahre 1879 eingeführt, 25 um den Nachweis der Anwesenheit anaerober Organismen zu führen. Allgemeineren Eingang in die Bakteriologie hat es jedoch erst durch das von H. BUCHNER (2) im Jahre 1888 angegebene Verfahren gefunden. Der 30 mit den zu züchtenden Wesen beimpfte, in einem Reagensglase enthaltene und allenfalls zu einer Rollkultur gestaltete Nährboden wird in eine größere Röhre (s. *Fig. 88*) von der Form eines Reagensglases (ca. 3 cm 35 weit, 25 cm lang) eingestellt, auf dessen Boden man unmittelbar zuvor 1 g trockene, käufliche Pyrogallussäure und 10 ccm einer Zehntelnormal-Kalilauge gebracht hat. Das Reagensglas ruht auf einem kleinen Draht- 40 gestell, um nicht in die alkalische Flüssigkeit einzutauchen. Man verschließt die **Buchnersche Pyrogallol-Röhre** mit einem gut sitzenden, vorher etwas befeuchtete Gummistöpsel und kann sie dann in den Thermostaten einstellen. Bei 37° gehalten, ist die Absorption des Sauerstoffes nach 24 Stunden ein 45 vollständige, bei 20° nach 2 Tagen. Will man Plattenzuchten nac

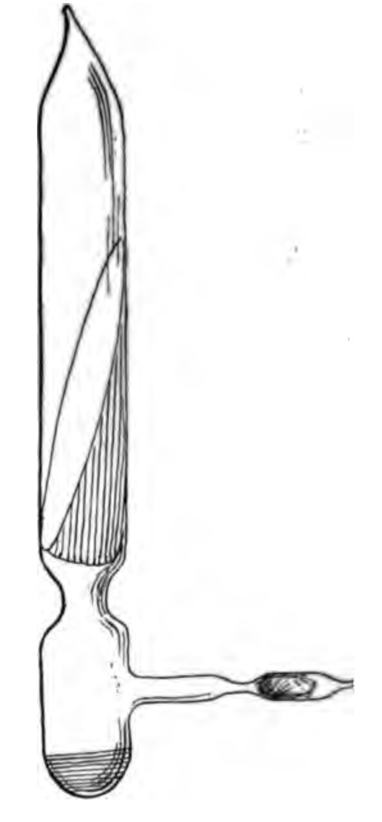


Fig. 87. Röhrchen von E. Rou zur Züchtung Anaerober auf Kartoffel. — Erklärung im Text.

diesem Verfahren behandeln, so bringt man sie oberhalb einer Schale an, welche eine hinreichende Menge der zuvorgenannten Lösung enthält und auf einer eben geschliffenen Glasplatte steht. Man bedeckt das Ganze mit einer gut sitzenden Glasglocke, deren Rand zuvor mit Vaseline bestrichen worden ist. Die einfache und bequeme BUCHNER'sche Vorrichtung bietet jedoch dafür keine Gewähr, daß bei längerem Aufbewahren der Zucht keine Luft durch den Kautschukstopfen hindurchdiffundieren kann. Ganz zuverlässig in dieser Hinsicht ist der Apparat von OMELIANSKI (1), der in vollkommen gasdichter Weise durch Glas und Quecksilber denjenigen Raum abschließt, in welchem sich die Absorptionsmischung und das Reagensglas mit der Zucht befinden. Der Apparat (s. *Fig. 89*) besteht aus zwei Teilen: dem dickwandigen Zylinder *A*, mit einer Erweiterung am unteren und einem ringförmigen Kragen *CC* am oberen Ende, und dem Helme *B*, welcher auf den sich etwas verjüngenden oberen Teil des Zylinders *A* aufgeschliffen ist. Vor dem Gebrauch befettet man die Oberfläche des Schliffes und gießt das Absorptionsgemisch, welches OMELIANSKI aus je 10 bis 20 ccm einer 12,5-proz. Kalilauge und einer 5-proz. Pyrogallollösung herstellt, in den Apparat ein. Dann wird sofort das Reagensglas mit der Zucht hineingestellt und der Helm *B* aufgestülpt, den man fest aufdreht. Schließlich gießt man soviel Quecksilber in den Kragen, daß damit der untere Rand des Helmes *B* bedeckt ist. Weil infolge der Sauerstoffabsorption ein ganz beträchtlicher negativer Druck im Apparate entsteht, falls die Entwicklung der Zucht ohne Gasbildung verläuft, so muß man, bevor man den Helm *B* dann wieder abhebt, durch behutsames Neigen des Apparates das Quecksilber aus dem Kragen auslaufen lassen, widrigenfalls es in den Apparat hineingesogen werden würde. — Das Verfahren, den Sauerstoff

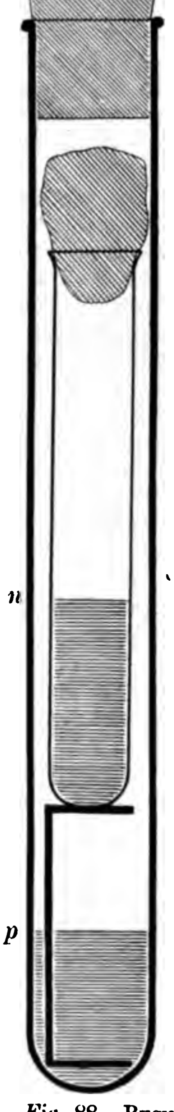


Fig. 88. BUCHNER's Anaeroben-Röhre. Bei *p* die Pyrogallol-Lösung, darin das Drahtbänkchen, auf diesem das Reagensglas mit dem beimpften Nährboden (*n*). Etwas verkleinert. Nach BUCHNER.

Fig. 89. OMELIANSKI's Vorrichtung zur Züchtung Anaerober. Erklärung im Text.

durch alkalische Pyrogallollösung zu beseitigen, könnte man aus dem Grunde nicht für die Zwecke der Reinzüchtung empfehlen, weil die Absorption des Sauerstoffes immerhin längere Zeit erfordert (ca. 24 Stunden und mehr). Für zählebige, sporenbildende Bakterien bringt das keine wesentlichen 5 Nachteile mit sich, wohl aber für sporenlose Mikrobier, welche gegen schädigende Einwirkungen viel empfindlicher sind, und zwar ganz besonders dann, wenn die Zellen, wie bei der Reinzüchtung, vereinzelt liegen. Andererseits können die aeroben Mikroorganismen in der Zeitspanne, in welcher noch Sauerstoff im Apparate vorhanden ist, in größerer 10 Menge sich vermehren und damit die Reinzüchtung sehr erschweren. Die für die Plattenzuchten nach dieser Methode empfohlenen Vorrichtungen von Gabritschewsky (1) und Dreuw (1) sind sehr einfach und bequem zu handhaben. — Dieselbe Absorptionsmethode könnte in sehr einfacher Weise auch zur Untersuchung im hängenden Tropfen heran-15 gezogen werden. Nikiforoff (1) nimmt dazu einen gewöhnlichen hohlgeschliffenen Objektträger, in dessen Vertiefung man zwei nicht zusammenfließende Tropfen von Kalilauge und Pyrogallollösung hineinbringt. Dann legt man das Deckgläschen mit der Zucht auf und läßt nun jene zwei Tropfen zusammentreten. — Es muß noch erwähnt werden, 20 daß außer der gewöhnlich angewandten alkalischen Pyrogallollösung auch andere Substanzen zur Sauerstoffabsorption empfohlen worden sind, so z. B. Chromacetat und Eisenoxydul durch Drossbach (1), Chromchlorür durch Fermi und Bassu (2) und Phosphor durch Sellards (1). Růžička (1) beseitigt die Hauptmenge des Sauerstoffes der Luft (in dem abgeschlossenen 25 Raume) mittelst eines Wasserstoff-Flämmchens; den Rest absorbiert er bis auf letzte Spuren mittelst alkalischer Pyrogallollösung.

Der **Ersatz der Luft durch ein indifferentes Gas** wird durch Verdrängung der Luft aus dem Zuchtgefäß durch Kohlensäure oder Wasserstoff oder Leuchtgas oder Stickstoff bewerkstelligt. Die Kohlen-30 säure ist oft durch die französische Schule empfohlen und insbesondere von Pasteur gelegentlich der Züchtung des *Vibrion septique* verwendet worden. Deren Anwendung ist jedoch nicht unbedenklich, denn sie ist kein absolut indifferentes Gas. Sie wird vom Nährboden absorbiert, macht diesen sauer und kann so das Wachstum hindern. Ueberdies 35 wirkt sie zufolge der Versuche P. Frankland's (1) auf manche Bakterien sogar als tötendes Gift (s. S. 537). Auch der Wasserstoff, welcher zuerst von Hauser (1) empfohlen worden ist, kann nach den bisherigen Erfahrungen von Hibler (1) und von Novy (3) nicht als indifferent bezeichnet werden. Dessenungeachtet darf man sagen, daß er 40 bis jetzt immer noch das verhältnismäßig tauglichste Gas für anaerobe Züchtungen ist. Das Leuchtgas ist zu diesem Zwecke von R. Wurtz und A. Foureur (1) angelegentlich empfohlen worden. Nach den Untersuchungen von Kladakis (1) muß man jedoch auch Leuchtgas verwerfen; denn es erwies sich diesem Forscher für viele Bakterien als Gift. Als 45 ganz unschädlich darf man den Stickstoff betrachten. Dieses Gas würde für Anaeroben-Züchtungen am meisten benützt werden, wenn nicht seine Herstellungsweise in absolut reinem Zustande, wenigstens für den Physiologen, noch immer zu umständlich und kostspielig wäre. Von den bisher empfohlenen Verfahren zur Verdrängung des Sauerstoffes 50 durch eines dieser Gase seien hier zwei erwähnt. Dasjenige von C. Fraenkel (1) betrifft die Behandlung von Zuchten im Reagensglas. Man gebraucht hierzu gewöhnliche weite Reagensgläser (s. *Fig. 90*) mit doppelt durchbohrtem Stöpsel, durch welchen zwei Glasröhren führen.

von denen die eine fast bis zum Boden des Gefäßes reicht, während die andere knapp unter dem Stöpsel endigt. Dieses Zuchtgefäß wird nach der Beschickung mit Nährgelatine (oder Agar, Bouillon, Würze usw.) wie üblich im Dampftopfe sterilisiert und dann beimpft. Hierauf wird ein Strom von Wasserstoff durch das längere der beiden Röhrchen hindurchgeleitet. Nach Austreibung aller Luft werden die Röhren abgeschmolzen und der Stöpsel mit warmem Paraffin bestrichen. Man kann dann allenfalls ESMARCH'sche Rollkulturen darstellen. — Sollen Plattenzuchten, z. B. solche in Petrischalen, in einem indifferenten Gase gehalten werden, so benutzt man gewöhnlich die Anordnung von BOTKIN (1). Diese besteht (s. *Fig. 91*) aus einer großen mit Bleirohr (*C*) beschwerten Glasglocke (*B*), die in einer tiefen Schale (*A*) steht. Auf dem Boden der letzteren liegt ein Kreuz aus Blei (*E*), so daß zwischen dem Boden der Unterschale und dem unteren Rande der Glocke Spalt zur rung von leitungen Auf das stellt man ein Drahtgestell (*D*) zur Aufnahme von Doppelschalen. Einleitung des Wasserstoffgases dient ein V-förmig gebogener Sch (*F*), dessen innerer Schenkel bis zum Scheitel der Glocke emporge ist. Der Schlauch ist mit einem dünnen, biegsamen Kupferdraht durchsteckt und mit einem Wasserstoffapparat verbunden. Zur Fortfü des Gases dient ebenso ein durch Kupferdraht versteifter Schlau dessen innerer Schenkel aber viel kürzer ist. Als Absperrungsflüs

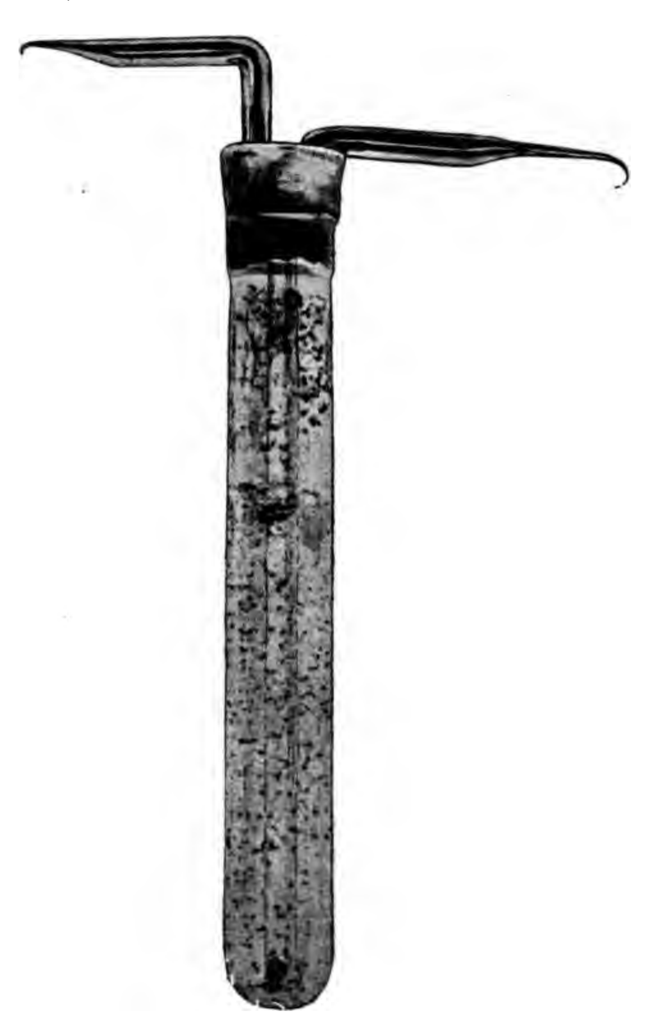


Fig. 90. FRAENKEL's Anaeroben-Röhre. Der Inhalt an der Röhrenwand zu ESMARCH'scher Rollkultur gestaltet und die bereits herangewachsenen Kolonien (als schwarze Punkte) erkennen lassend. — Etwas verkleinert. Nach FRAENKEL.

benutzt man Paraffinum liquidum. Auf dem Einsatz werden die beimpften Platten und eine Schale mit alkalischer Pyrogallollösung aufgestellt, weil durch einfaches Durchleiten von Wasserstoff die Luft aus den Winkeln und Ecken möglicherweise nicht genügend ausgetrieben worden sein könnte. Dann wird Wasserstoff bei geschlossener Ausströmungsöffnung zugeleitet, so daß die Luft zuerst durch die Sperrflüssigkeit entweicht. Nach 10 Minuten öffnet man das Ableitungsrohr und prüft, ob das ausströmende Gas ruhig brennt. Anderenfalls muß man die Durchleitung des Gases wiederholen. Nach deren Beendigung werden die Schläuche hervorgezogen. Zur Beschickung des den Wasserstoff liefernden KIPP'schen Apparates werden chemisch reines Zink und ebensolche Schwefelsäure verwendet. Der entbundene Wasserstoff wird zur Reinigung durch drei hintereinander geschaltete Waschflaschen geleitet, welche mit alkalischer Bleilösung oder (10-proz.) Bleinitratlösung zur Zurückhaltung etwaiger Spuren von Schwefelwasserstoff, mit (10-proz.) salpetersaurem Silber in geschwärztem Gefäße zur Bindung von Arsen und mit alkalischer Pyrogallollösung zur Entfernung von Sauerstoff beschickt sind. SCHATTENFROH und GRASSBERGER (1), welche das BOTKIN'sche Verfahren wesentlich vervollkommnet haben, benutzten für ihre Versuche viel kompliziertere Waschvorrichtungen.

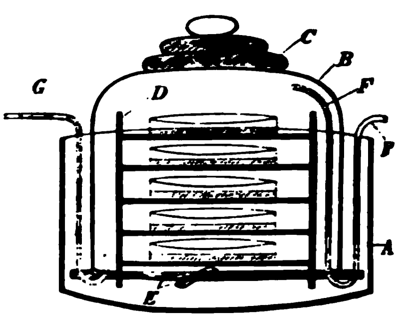


Fig. 91. BOTKIN's Vorrichtung zur Züchtung Anaerober auf Platten. — Erklärung im Text.

Die **schützende Wirkung von Aeroben in Mischzuchten** als Verfahren zur Züchtung von Anaeroben ahmt gleichsam die Bedingungen nach, unter welchen die Anaerobier an den Orten ihres Vorkommens in der Natur leben, nämlich in Gemeinschaft und in innigem Gemenge mit kräftig aeroben Arten. Wir können ja oft die Anwesenheit anaerober Organismen in Flüssigkeiten feststellen, zu denen die Luft ungehindert Zutritt hat. Die ersten Beobachtungen darüber verdankt man, wie schon auf S. 577 erwähnt worden ist, PASTEUR. Weitere Versuche in dieser Richtung haben ROUX (1), PENZO (1), BEIJERINCK (1), KEDROWSKY (1), SCHOLTZ (1), BIENSTOCK (1) u. a. gemacht, von deren widerstreitenden Ergebnissen schon auf S. 506 eingehend die Rede war. Die praktische Verwendbarkeit dieses Verfahrens ist eine sehr beschränkte, weil es sich dabei ja immer nur um Mischzuchten handeln kann. Nichtsdestoweniger haben es einige Forscher zu praktischen Zwecken empfohlen. So schlägt DEBRAND (1), um die technischen Schwierigkeiten der Anfertigung von anaeroben Massenzuchten des *Bac. tetani* zu umgehen, vor, bei Gewinnung von Antitetanus-Serum eine Mischkultur von *Bac. tetani* und *Bac. subtilis* unter aeroben Verhältnissen zu verwenden. Das nach diesem Verfahren gewonnene Serum ist nach DEBRAND (2) ebenso aktiv wie das unter Benutzung von Reinkultur des Tetanusbazillus angefertigte und äußert im Organismus durchaus keine Nebenwirkung. Gute Dienste kann das Mischzuchtverfahren auch für die Zwecke der Aufbewahrung eines anaeroben sporenbildenden Mikroorganismus leisten. Im Gemisch mit irgend einer aeroben sporenfreien Art kann dieser

leicht beliebig lang fortgezüchtet und jederzeit nach Bedarf von seinem Begleiter durch Erhitzen wieder befreit werden.

Literatur

zum Kapitel Die Züchtung anaerober Kleinlebewesen.

***Arens,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 15. ***Arloing, Cornevin und Thomas,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1880, Bd. 90, S. 1302. ***Babes,** V., und **Puscariu,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 73. ***Bassu,** (1) Giorn. d. Soc. d'Igiene, 1905, Bd. 27, S. 72. ***Beck,** M., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1897, Bd. 22, S. 343. ***Beijerinck,** M. W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. 14, S. 827. — (2) Verh. d. koninkl. Akad. van Wetenschappen te Amsterdam, 1893. — (3) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1900, Bd. 6, S. 341. — (4) Ebenda, 1895, Bd. 1, S. 105. — (5) Archives Néerland. des Sciences Exactes et Naturelles, 1903, 2. Serie, Bd. 9, S. 131. — (6) Proceedings of the Meetings of the Royal Academy of Sciences. Amsterdam. May 28th. 1898. ***Bienstock,** Berthold, (1) Arch. f. Hyg., 1899, Bd. 36, S. 335. ***Blücher,** (1) Z. f. Hyg., 1890, Bd. 8, S. 499. ***Bombicci,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1902, Bd. 31, Orig., S. 154. ***Botkin,** S., (1) Z. f. Hyg., 1890, Bd. 9, S. 383. ***Braatz,** Egbert, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1895, Bd. 17, S. 737. ***Brefeld,** O., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1874, Bd. 7, S. 281. ***Brieger,** Ludwig, (1) Untersuchungen über Ptomaine. Berlin 1885. ***Buchner,** Eduard, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1885, Bd. 9, S. 402. ***Buchner,** Hans, (1) Arch. f. Hyg., 1885, Bd. 3, S. 361. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 4, S. 149. ***Bulloch,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1900. Bd. 27, S. 140. ***Burri,** Rob., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 533. ***Cahen,** (1) Z. f. Hyg., 1886, Bd. 1, S. 301. ***Cantani,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1900, Bd. 28, S. 743. ***Chudjakow,** N., (1) Zur Lehre von der Anaerobiose. Teil I. Moskau 1896 (russisch); ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 389. ***Debrand,** (1) Ann. Pasteur, 1900, Bd. 14, S. 757. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 16, S. 427. ***Dreuw,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1904, Bd. 36, Orig., S. 748. ***Drossbach,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 775. ***Emmerling,** O., (1) Hyg. Rundsch., 1904. Bd. 14, S. 452. ***Engelmann,** Th. W., (1) Bot. Ztg., 1888, Bd. 46, S. 694. ***van Ermengem,** E., (1) Z. f. Hyg., 1897, Bd. 26, S. 1. ***Esmarch,** E. **von,** (1) Z. f. Hyg., 1886, Bd. 1, S. 293. ***Fermi** und **Bassu,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1904, Bd. 35, Orig., S. 563. — (2) Ebenda, 1905, Bd. 38, Orig., S. 138. ***Ferrán,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 24, S. 29. ***Fitz,** Albert, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1884, Bd. 17, S. 1188. ***Fraenkel,** C., (1) Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 3, S. 735. — (2) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 5, S. 332. ***Frankland,** Percy, (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 6, S. 13. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 109. ***Frosch,** P., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1897, Bd. 21, S. 926. ***Fuchs,** M., (1) Dissert., Greifswald 1890; ref. in Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 12. ***Gabritschewsky,** G., (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 10, S. 248. ***Gaffky,** (1) Mitt. kais. Ges.-Amt., 1881, Bd. 1, S. 91. ***Ghon** und **Sachs,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1902, Bd. 32, Orig., S. 403. ***Gruber,** Max, (1) Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 1, S. 367. ***Guillemard,** A., (1) Ann. Pasteur, 1906, Bd. 20, S. 155. ***Gunning,** J. W., (1) J. f. prakt. Chem., 1877, Bd. 16, S. 314. — (2) Ebenda, 1878, Bd. 17, S. 266. — (3) Ebenda, 1879, Bd. 20, S. 434. ***Hammerl,** Hans, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 30, S. 658. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 31, Orig., S. 589. ***Hauser,** Gustav, (1) Ueber Fäulnisbakterien usw.; Leipzig 1885. ***Heim,** L., (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 10, S. 260 u. 434. — (2) Ebenda, 1892, Bd. 11, S. 800. ***Hesse,** W., (1) Deutsche med. Wochenschr., 1885, Bd. 11, S. 214. — (2) Z. f. Hyg., 1892, Bd. 11, S. 237. ***Hibler, E. von,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1899, Bd. 25, S. 603. ***Hüfner,** G., (1) J. f. prakt. Chem., 1876, Bd. 13, S. 292. ***Hueppe,** Ferd., (1) Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 4, S. 80. — (2) Die Methoden der Bakterienforschung. 5. Aufl., Wiesbaden 1891. ***Jensen,** C. O., und **Sand,** (1) Deutsche Zeitschr. f. Tiermedicin, 1887, Bd. 13, H. 1; ref. in Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 1, S. 265. ***Kabrhel,** Gustav, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1899, Bd. 25, S. 555. ***Kamen,** Ludwig, (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 12, S. 296. ***Kasparek,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 20, S. 536. ***Kedrowsky,** W., (1) Z. f. Hyg., 1894, Bd. 16, S. 445. — (2) Ebenda, 1895, Bd. 20, S. 358. ***Kitasato,** Shibasaburo, (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 6, S. 110. — (2) Ebenda, 1889, Bd. 7, S. 223. ***Kitasato,** Sh., und **Weyl,** Th., (1) Z. f. Hyg., 1890, Bd. 8, S. 41. ***Kitt,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1895, 1. Abt., Bd. 17, S. 168. ***Kladakis,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 23. ***Klein,** Alex., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 24, S. 967. ***Koch,** Robert, (1) Mitt. kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1, S. 53. — (2) Berl. klin. Wochenschr., 1884, Bd. 21, S. 480. ***Liborius,** Paul, (1) Z. f. Hyg., 1886, Bd. 1, S 115. ***Lubinski,** Wsewolod, (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 16, S. 20. ***Lüderitz,** (1) Z. f. Hyg., 1889, Bd. 5, S. 140. ***Mac Farland,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 19, S. 550. ***Marpmann,** G., (1) Centralbl. f.

Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 23, S. 1090. ***Matzuschita,** Teisi, (1) Arch. f. Hyg., 1902, Bd. 43, S. 267. ***Mereshkowsky,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1903, Bd 33, Orig., S. 393. ***Meyer,** Arthur, (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 15, S. 337. ***Migula,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 19, S. 894. ***Nencki, M.,** (1) J. f. prakt. Chem., 1879, Bd. 19, S. 337. — (2) Pflügers Archiv, 1884, Bd. 33, S. 9. — (3) Arch. f. exp. Pathologie u. Pharmakologie, 1886, Bd. 21, S 299. ***Nencki,** M., und **Lachowich,** (1) Pflügers Archiv, 1884, Bd. 33, S. 1. ***Nicolaier,** (1) Zur Aetiologie des Wundstarrkrampfes beim Menschen. 1885. — (2) Virchows Archiv, 1892, Bd. 128, S. 10. — (3) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 227. ***Nikiforoff,** (1) Z. f. Hyg., 1890, Bd. 8, S. 489. ***Novy,** F. G., (1) Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. 14, S. 581. — (2) Ebenda, 1894, Bd. 16, S. 566. — (3) Z. f. Hyg., 1894, Bd. 17, S. 218. ***Oettingen. V. von,** (1) Z. f. Hyg., 1903, Bd. 43, S. 463. ***Ogata, M.,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 11, S. 621. ***Omeliansk,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 8, S. 711. — (2) Ebenda, 1903, Bd. 11, S. 177. ***Oprescu,** (1) Hyg. Rundsch., 1898, Bd. 8, S. 107. ***Pasteur,** L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1861, Bd. 52, S. 344 u. 1260. — (2) Études sur la bière. 1876. — (3) Comptes rend. de l'Ac., 1877, Bd. 85, S. 101. ***Pasteur,** L., **Joubert** und **Chamberland,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1878, Bd. 86, S. 1039. ***Penzo,** Rudolf, (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 10, S. 822. ***Petri,** R. J., und **Maassen,** A., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1892, Bd. 8, S. 316. ***Porodko,** Theodor, (1) Jahrb. wiss. Bot., 1904, Bd. 41, S. 1. ***Prażmowski,** Adam, (1) Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien-Arten. Leipzig 1880. ***Rickards,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1904, Bd. 36, Orig., S. 557. ***Righi,** (1) La Rif. med., 1894, Nr. 205; ref. in Centralbl. f. Bakt., 1895, Bd. 17, S. 315. ***Rivas,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1902, Bd. 32, Orig., S. 831. ***Robin,** A., (1) Ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 15, S. 247. ***Rodella,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 13, S. 513. ***Rosenbach,** (1) Deutsche Zeitschrift f. Chirurgie, 1880, Bd. 13, S. 344. ***Rosenthal,** (1) Comptes rend. hebd. des Séanc. de la Soc. de Biologie, 1902, Bd. 54, S. 1132. — (2) Ebenda, 1903, Bd. 55, S. 1292. — (3) Ebenda, 1906, Bd. 60, S. 874. ***Roth,** Otto, (1) Centralbl. f. Bakt., 1893, Bd. 13, S. 223. ***Roux,** E., (1) Ann. Pasteur, 1887, Bd. 1, S. 49. — (2) Ebenda, 1888, Bd. 2, S. 28. ***Růžička,** St., (1) Arch. f. Hyg., 1906, Bd. 58, S. 327. ***Samkow,** S., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 11, S. 305. ***Sanfelice,** (1) Z. f. Hyg., 1893, Bd. 14, S. 339. ***Schattenfroh** und **Grassberger,** (1) Arch. f. Hyg., 1900, Bd. 37, S. 54. ***Schill,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. 5, S. 337. ***Schmidt,** Ad., (1) Centralbl. f. Bakt., 1895, Bd. 17, S. 460. ***Scholtz,** (1) Z. f. Hyg., 1898, Bd. 27, S. 132. ***Schottelius,** M., (1) Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 2, S. 97. ***Sellards,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1904, Bd. 37, Orig., S. 632. ***van Senus,** A. H. C., (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 12, S. 144. ***Slupski,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1901, Bd. 30, S. 396. ***Smith, Brown** und **Walker,** (1) Journ. of medic. research., 1905, Bd. 14, S. 192. ***Spina,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 2, S. 71. ***Stüler,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1904, Bd. 37, Orig., S. 298. ***Tarozzi, G.,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1905, Bd. 38, Orig., S. 619. ***Trambusti, Arnaldo,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 11, S. 623. ***Trenkmann,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 23, S. 1038. ***Ucke,** Alexander, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 23, S. 996. ***Vignal,** (1) Ann. Pasteur, 1887, Bd. 1, S. 358. ***Votteler,** (1) Z. f. Hyg., 1898, Bd. 27, S. 480. ***Winogradsky,** S., (1) Bot. Ztg., 1887, Bd. 45, S. 489. ***Wright,** (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1900, Bd. 27, S. 74. — (2) Ebenda, 1901, Bd. 29, S. 61. ***Wrzosek,** (1) Wiener klin. Wochenschr., 1905, Bd. 18, S. 1268. ***Wurtz, R.,** und **Foureur,** A., (1) Archives de médecine exp. et d'anatomie path., 1889, S. 523. ***Zettnow,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 638. ***Zupnik,** Leo, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 24, S. 267.

Siebenter Abschnitt.

Thermogene und photogene Bakterien.

(*Manuskript-Einlauf: 7. Dez. 1906.*)

24. Kapitel.

Thermogene Bakterien. Wärmeerzeugung durch Gärungsorganismen.

Von Prof. Dr. J. BEHRENS.

§ 132. Allgemeines.

Wie bei allen tierischen und pflanzlichen Organismen und in jedem anorganischen System, so sind auch bei den Gärungsorganismen die bei weitem meisten Energieveränderungen, die meisten Vorgänge des Stoff- und Kraftwechsels, mit thermischen Veränderungen, mit Wärmebildung 5 oder Wärmeabsorption verbunden. So ist die Sauerstoffatmung ein wärmebildender (exothermer) Prozeß, das Wachstum (die Volumvergrößerung) ein Wärme absorbierender (endothermer). Bei den aeroben Organismen erscheint es bei dem Vorwalten des Atmungsprozesses über die anderen fast als selbstverständlich, daß die Resultante aus dem Zu- 10 sammenwirken endothermer und exothermer Prozesse eine positive ist, daß stets Wärme gebildet wird. Nicht ohne weiteres selbstverständlich ist das für das Leben ohne Sauerstoffatmung. Die Erfahrung lehrt indes, daß auch in diesem Falle die exothermen Prozesse vorwalten, daß Wärme produziert wird. 15

In wie hohem Maße die Sauerstoffatmung bei aeroben Organismen für den Wärmehaushalt maßgebend ist oder doch sein kann, zeigen die quantitativen Untersuchungen von RODEWALD (1 u. 2) über die Wärmeproduktion von reifen Aepfeln und Kohlrabiknollen, nach denen die gefundene Wärmebildung annähernd derjenigen Wärmemenge entsprach, 20 welche sich bei der Annahme einer vollständigen Verbrennung von Zucker auf Grund des Sauerstoffverbrauchs und der Kohlensäurebildung berechnen ließ. Für die aeroben Gärungsorganismen fehlen derartige Messungen noch. Wenn TANGL (1) nachweist, daß auf 1 g verschwundene Trockensubstanz in Kulturen von *Bacillus anthracis* 6.4 Cal., v

Bacterium suipestifer 4,4 Cal. und *Bac. subtilis* 4,8 Cal. verbraucht waren, so ist es wohl sehr wahrscheinlich, aber es fehlt immerhin noch der exakte Beweis dafür, daß diese Energiemengen ganz oder zum Teil als Wärme verschwunden sind.

5 Eine exakte Methode zur Messung der Wärmebildung bei den Gärungsorganismen hat RUBNER (1 u. 2) ausgearbeitet, der auch die Wärmeproduktion von Bakterien in menschlichen Fäces gemessen hat. Er verwendet dazu ein Kalorimeter mit dreifacher konzentrischer Wand, dessen Wasserwert bestimmt wird. Der von der Wand eingeschlossene 10 peripherische Raum ist luftleer, so daß Wärmeverluste fast vollständig vermieden sind, und die Wärmebildung sich unmittelbar an einem feinen, in die Nährlösung im Kalorimeter tauchenden Thermometer ablesen läßt. Auch die spezifische Wärme der Nährflüssigkeit muß natürlich bestimmt sein, damit eine quantitative Berechnung möglich ist. Mit Hilfe dieses 15 Instrumentes hat RUBNER (3) auch die Wärmebildung bei der alkoholischen Gärung, also bei einem anaerobiotisch verlaufenden Gärungsvorgang, gemessen. Noch LIEBIG (2) war der Ansicht, daß die alkoholische Gärung des Zuckers ein endothermer Prozeß sei, der einen großen Energieaufwand erfordere, und diese Ansicht war auf Grund der 20 damals vorliegenden, später kurz zu berührenden qualitativen Beobachtungen über Selbsterwärmung gärender Flüssigkeiten nicht zu widerlegen. Immerhin glaubte NÄGELI (1), der nach DUBRUNFAUT's (1) Beobachtungen die Gärungswärme von 1 Grammmolekül Glucose zu 25 Kalorien berechnete, den Schluß ziehen zu dürfen, daß bei der Gärung Wärme 25 entbunden werde, während enzymatische Prozesse unter Wärmebindung verlaufen sollten. Später haben BERTHELOT (1 u. 2) und RECHENBERG (1) auf Grund thermochemischer Daten aus der Verbrennungswärme des Zuckers einerseits, des Alkohols andererseits die bei der Gärung entwickelte Wärmemenge zu berechnen versucht. BOUFFARD (1), der die 30 Hefengärung in gezuckertem Most verfolgte, fand bei mehreren gut untereinander stimmenden Versuchen, daß die Gärungswärme von 1 Grammmolekül Traubenzucker 23,5 Kalorien betrug, ein Wert, der mit dem von NÄGELI berechneten recht gut stimmt. Kurz vor RUBNER endlich bestimmte ADR. BROWN (1) experimentell die Gärungswärme der 35 Maltose und berechnete danach für das Grammmolekül Dextrose die Gärungswärme zu 21,4 Kalorien. RUBNER endlich fand für das Grammmolekül Dextrose 24,01 Kalorien. Dieser sowie die von BROWN, BOUFFARD und DUBRUNFAUT ermittelten Werte stimmen auch ganz gut mit dem von MOHR (1) auf Grund der zuverlässigsten Zahlen für die 40 Verbrennungswärme von Zucker und Alkohol berechneten Gärungswärme von 26 Cal. Daß die berechneten und gefundenen Werte nicht ganz gleich sein können, folgt ohne weiteres aus der Ueberlegung, daß bei der alkoholischen Gärung außer Alkohol und Kohlensäure auch noch andere Gärungsprodukte entstehen, sowie daß ein Teil des Zuckers zum 45 Wachstum der Hefe verbraucht wird. Immerhin ist die Uebereinstimmung eine sehr gute. Man vergleiche auch Bd. IV, S. 356.

Für einige andere anaerobiotisch verlaufende Gärungen hat R. O. HERZOG (1) die freiwerdende Energiemenge berechnet. Nach ihm werden bei der Spaltung eines Grammmoleküles d-Glucose in zwei 50 Grammmoleküle Milchsäure 14,7 Kalorien, in ein Grammmolekül Buttersäure und je zwei Grammmoleküle Wasserstoff und Kohlensäure 10,9 Kalorien frei. Daß die tatsächlich entwickelte Wärme hinter diesen Werten zurück-

bleiben wird, ist nach dem oben Gesagten selbstverständlich. Immerhin wird auch bei diesen Gärungen danach eine Wärmebildung zu erwarten sein.

Neuerdings hat RUBNER (4) wieder über Messungen des Wärmehaushaltes verschiedener Bakterien berichtet, und von besonderem Interesse ist es, daß seine Untersuchungen (5) über die Wärmebildung bei 5 der spontanen Milchsäuregärung und Gerinnung der Milch zu dem auch theoretisch wichtigen Ergebnis führten, daß die Wärmebildung der Milchsäurebakterien weit größer ist, als es der chemischen Gleichung der Milchsäuregärung entsprechen würde, daß also der Prozeß der Milchsäuregärung in Milch voraussichtlich komplizierter verläuft (s. Bd. II, 10 S. 60). Die Milchsäuregärung bildet nach RUBNER's Untersuchungen weniger als die Hälfte des Energie-Umsatzes der Milchsäurebakterien.

Diesen wenigen quantitativen Messungen des Energieumsatzes und der Wärmebildung stehen zahlreiche rein qualitative Beobachtungen der Wärmeproduktion durch Gärungsorganismen gegenüber, die wir in den 15 nächsten Paragraphen betrachten werden. Daß die direkt beobachtete Temperaturerhöhung von Lebewesen bezw. von Gärungserregern durchsetzter Substanzen ein Maß für die tatsächlich gebildete Wärme nicht liefern kann, folgt aus der einfachen Ueberlegung, daß für die Höhe der gemessenen Wärme nicht nur die Zahl der gebildeten Kalorien, 20 sondern auch die Verluste durch Leitung und Strahlung, durch Wasserverdampfung u. dergl. und ferner die spezifische Wärme der Körper, deren Erwärmung gemessen wird, maßgebend sind. So werden bei quantitativ gleicher Wärmeproduktion und gleichen Wärmeverlusten wasserreichere Massen sich weniger erwärmen als wasserärmere. 25

§ 133. Verschiedene Einzelfälle und ihre Ursachen.

Bei der großen Oberflächenentwicklung der Pflanzen wird die tatsächliche Wärmeproduktion meist durch die Wärmeverluste an die Umgebung vollkommen verdeckt, und das ist noch mehr als bei den höheren Pflanzen bei den Gärungsorganismen der Fall, von denen der größte 30 Teil in wässerigem, also gut leitendem Medium lebt. Nur die massigeren Fruchtkörper der Basidiomyceten, zu denen insbesondere die auf S. 286 u. f. des Dritten Bandes behandelten Holzzerstörer gehören, zeigen durch das Vorhandensein einer geringen Temperaturerhöhung unmittelbar, daß in ihnen eine Entwicklung von Wärme stattfindet. Wie FALK (1) neuer- 35 dings gezeigt hat, steht diese Eigenwärme der Basidiomycetenfruchtkörper insofern im Dienste der Sporenverbreitung, als sie die Entstehung eines aufsteigenden Luftstromes am Fruchtkörper zur Folge hat, der allerdings schwach ist, aber genügt, um die durch einen Spritzmechanismus (s. Bd. I, S. 468) abgeschleuderten Basidiosporen in die Höhe zu führen. 40

Nur in diesem Falle einer im Verhältnis zur Masse geringen Oberflächenentwicklung, die sonst im Kreise der Gärungsorganismen nicht wiederkehrt, ist qualitativ die Wärmebildung am Individuum nachzuweisen. Bei einem *Rhizopus nigricans* oder einem Hefen- bezw. Bakterien-Individuum wäre das infolge der Wärmeverluste durch Leitung eine 45 vergebliche Mühe. Nur wo große Massen irgend eines Nährsubstrats, ganz erfüllt und durchsetzt von den Gärungsorganismen, bei äußerster Verringerung der ausstrahlenden Oberfläche vorliegen, da ist es ohne weiteres möglich, an der Temperaturerhöhung der gärenden, in Zersetzung befindlichen ganzen Masse die Wärmeentwicklung durch die Gärungs- 50

organismen qualitativ zu erkennen. So ist insbesondere die Temperatursteigerung größerer Mengen gärender Flüssigkeiten (Wein, Bier) längst bekannt. DUBRUNFAUT (1), FITZ (1) und BREFELD (1) berichten darüber, und in Produktionsgebieten, in denen die Lufttemperatur zur Zeit der Traubenlese höher als bei uns ist, z. B. im südlichen Frankreich, in Tunis oder Algier, hat die Gefahr, daß die Gärungswärme die Temperatur des gärenden Mostes auf 40° C und mehr steigern und dadurch die Tätigkeit der Hefe selbst (s. Bd. IV, S. 117) sistieren könnte, längst dazu genötigt, besondere Vorsichtsmaßregeln zu ergreifen, um einen Traubensaft von möglichst niederer Anfangstemperatur zu erhalten (Lese ausschließlich in den frühen Morgenstunden), oder sich eigener Apparate zu bedienen, welche den gärenden Most abkühlen. MEINECKE (1) hat die angewendeten Maßregeln und Refrigeratoren näher beschrieben. ERIKSSON (1) hat die Wärmebildung durch Hefe einerseits bei Sauerstoffausschluß, also reiner Gärung, anderseits bei Sauerstoffzutritt qualitativ (durch Temperaturmessung) verfolgt und, wie zu erwarten, eine höhere Wärmeentwicklung bei Sauerstoffzutritt (s. Bd. IV, S. 124) gefunden. Die Hefe wuchs bei seinen Versuchen auf mit Nährlösung getränktem Filtrierpapier, das in Masse um die Thermometerkugel gehäuft war. In Wasserstoffatmosphäre betrug die Temperatursteigerung in der Masse 0,2° über die Temperatur der Umgebung, bei Luftzutritt 1,2° bezw. 3,9°, je nachdem durch Zuckermangel die Gärung verhindert oder durch Vorhandensein von Zucker ermöglicht war.

Von einigermaßen gut charakterisierten anaeroben Gärungen erwähnt POPOFF (1) noch schwache Temperaturerhöhung der gärenden Masse bei Methangärung der Cellulose und anderer Körper. Ueberall sonst, wo Temperaturerhöhung zusammengehäufter organischer Substanz infolge der Tätigkeit von Gärungsorganismen bekannt geworden ist, handelt es sich um weniger bekannte, wohl stets unreine Gärungen. Dahin gehört die Selbsterwärmung des lagernden Stallmistes, auf die auf S. 420 des Dritten Bandes näher eingegangen, und die im Gärtnereibetrieb ebenso wie die der Lohe, des Laubes u. dergl. zur Erwärmung des Bodens in den Mistbeeten ausgenutzt wird. Nach WEHMER (1) spielt die Wärmebildung in Dünger- und Lohehaufen auch beim holländischen Verfahren der Bleiweißfabrikation eine Rolle. Ueberhaupt wird nach dem Gesagten überall dort eine Wärmeproduktion zu erwarten sein, wo große Mengen gärungsfähiger (organischer) Substanz aufgehäuft sind und genügende Feuchtigkeit vorhanden ist, um das Wachstum und die Tätigkeit von Gärungsorganismen zu ermöglichen. So tritt Selbsterwärmung auch beim Einsäuern der Futtermittel (s. Bd. II, S. 329 bis 330) und bei der auf S. 5 des Fünften Bandes behandelten Fermentation des Tabaks ein, auf die wir im § 136 noch einmal zurückkommen. Bei der Selbsterwärmung zusammengehäufter feuchter Häute (s. Bd. V, S. 22) sind wohl Bakterien der Eiweißfäulnis die Wärmeerzeuger. BIFFEN führt (s. Bd. III, S. 102) auf solche auch die Fäulnis des Rohkautschuks zurück, bei welcher der Kautschuk unter Entwicklung eines widerlichen Geruches in den als „erhitzt" bezeichneten Zustand übergeht. Nach einem Anonymus (2) verhindert Ueberziehen der Ballen mit einem luftdichten Ueberzug, nach ZIMMERMANN (1) Verwendung von roher Karbolsäure als Koagulationsmittel für den Milchsaft von *Manihot Glaziovii* das Verderben. Ob dasselbe wirklich auf Eiweißfäulnis beruht, ist übrigens um so fraglicher, als nach A. DE JONG und TROMP DE HAAS (1) im Gegensatz zu BIFFEN und WEBER (1) die technische Koagulation der

kautschukhaltigen Milchsäfte von der Fällung der Eiweißstoffe ganz unabhängig sein, ja, nach A. DE JONG (1) durch den Eiweißgehalt sogar gehemmt werden soll. Auch bei der Gärung zusammengehäufter feuchter Lumpen, wie sie früher zur Isolierung der Einzelfasern in der Papierfabrikation angewendet wurde (s. Bd. III, S. 284), tritt eine Selbsterwärmung ein. Man hat sogar vorgeschlagen, die Gärung und Selbsterhitzung aufeinander geschichteter feuchter Textilpflanzen (Flachs) zur Isolierung der Bastfasern statt der Wasserrotte auszunutzen. Bei der technischen Aufbereitung der Kaffeebohnen spielt nach TSCHIRCH (1) und anderen Forschern eine mit Selbsterhitzung einhergehende Zersetzung des Fruchtfleisches in den auf Haufen gebrachten Beeren bezw. Samen, das sogen. Brüten, eine Rolle, das näher noch nicht untersucht ist. Vielleicht handelt es sich, wie bei der ähnlichen Bereitungsmethode des Kakao, die im 26. Kapitel dieses Bandes kurz betrachtet werden wird, um eine alkoholische Gärung. Dort wird auch auf die schwache Selbsterwärmung des Tees bei der sogen. Fermentation näher einzugehen sein. Auch bei dem von WARBURG (1) unter kritischer Sichtung der Literatur besprochenen „Schwitzen“ der frisch gekalkten Muskatnüsse die zu diesem Zweck in Behältern (Schwitztrögen) aufgehäuft werden, scheint eine Selbsterwärmung infolge eines noch gänzlich unbekannten Gärungsprozesses stattzufinden. Für gewisse Färbungen bedient man sich nach WEHMER (1) fermentierten Blauholzes: Die angefeuchteten geraspelten Spähne werden in Haufen geschichtet, in denen sie eine Selbsterhitzung erleiden. Welcher Art die dabei stattfindende Umwandlung des Farbmateriales ist, scheint noch unbekannt zu sein. Am gleichen Orte weist WEHMER auch auf die Selbsterhitzung hin, welche die Knochenkohle der Zuckerraffinerien bei der Regenerationsgärung erfährt. Bei der „trockenen“ Gärung wenigstens, bei der die unwirksam gewordene, mit organischer Substanz beladene Knochenkohle in Haufen geschichtet wird, treten in dem Haufen Temperaturen von 60—70° auf. Dabei werden die organischen Substanzen zersetzt, wahrscheinlich durch Bakterien. Der Vorgang erinnert an die auf S. 401 des Dritten Bandes erwähnte Selbsterwärmung der biologischen Füllkörper. PAGEL (1) suchte durch eine Fermentation, die er das mit Jauche übergossene Rohmaterial in Haufen durchmachen ließ, den Stickstoff und die Phosphorsäure norwegischen Fischguanos und gedämpften Knochenmehls aufzuschließen, allerdings nicht gerade mit befriedigendem Erfolg. Er konnte indes zeigen, daß dabei die Temperatursteigerung ein Maß der Gärung war. Sobald diese zu Ende war, sank die Temperatur, und je höher dieselbe stieg, um so besser war auch der Stickstoff aufgeschlossen. Die Wärme, welche zusammengehäufte Walnußkätzchen (männliche Blütenstände) entwickeln, benutzte UHLANDT (1) statt des Stallmistes zur Erwärmung von Mistbeeten.

Diese Einzelfälle mögen genügen. Wir haben sie als Beispiele für Wärmeproduktion durch Gärungsorganismen aufgeführt. Es muß indessen bemerkt werden, daß mit Ausnahme der Wärmeproduktion durch alkoholische Gärung eigentlich in keinem Falle der exakte Nachweis für diesen Ursprung der Wärme geführt ist. Nur für die Selbsterwärmung feuchten Heues und des Hopfens, die später zu betrachten sein werden, sowie für einige hier noch zu besprechende Fälle ist dieser Nachweis exakt geliefert. Insbesondere hat COHN (1) für Gerstenmalz den Nachweis geliefert, daß hier die Temperatursteigerung in den Haufen zunächst eine Folge der normalen Atmung der Keimlinge ist.

daß aber bei 40—45° die Entwicklung von Schimmelpilzen beginnt, unter denen bei 45—48° der thermotolerante *Aspergillus fumigatus* (s. Bd. IV, S. 209) die Alleinherrschaft gewinnt, und daß auf Rechnung von dessen Atmungs- und Zersetzungstätigkeit die weitere Temperatur- 5 steigerung bis auf 60° zu setzen ist. Schloß man die Entwicklung des *Aspergillus fumigatus* durch Behandlung der Gerstensamen mit Kupfervitriol aus, so erreichte die Temperatursteigerung schon bei 40° ihr Maximum. COHN bediente sich bei diesen Untersuchungen sowohl wie bei den ferner zu betrachtenden eines von ihm Thermophor genannten 10 Apparates, eines durch Deckel verschließbaren, auf allen Wänden siebartig von Löchern durchbrochenen verzinnten Blechzylinders von 25 cm Durchmesser und Tiefe. Derselbe wird mit dem auf Selbsterwärmung zu prüfenden Material gefüllt und dann in einen großen Korb derart eingesetzt, daß zwischen Zylinder und Korbwand überall ein mit Watte 15 zu füllender Zwischenraum von 5 cm bleibt; auch der Deckel wird zur Vermeidung von Wärmeverlusten mit Watte belegt. Ein durch den Deckel hindurch eingeführtes Thermometer mit langem Stiel zeigt den Gang der Temperatur im Innern des Zylinders an. Die Temperatursteigerung in angefeuchteten Baumwollenabfällen, die stellenweise zur Heizung von 20 Frühbeeten verwendet werden, rührt nach COHN's weiteren Untersuchungen (3) von aeroben Mikrokokken her, die sich in den Abfällen entwickeln. Sterilisierte Baumwollabfälle erhitzten sich bei seinen Versuchen nicht, dagegen wohl, wenn sie durch Uebergießen mit aus frischen Abfällen ausgepreßtem Wasser wieder mit dem Gärungsorganismus ge- 25 impft worden waren. Als Maximum der Temperatursteigerung beobachtete COHN in seinem Thermophor bei Baumwollabfällen 67,2°, bei Malz 65°. Daß bei so hohen Temperaturen nur thermotolerante oder thermophile Organismen (vergl. S. 448) noch die Bedingungen ihres Gedeihens finden, nur solche also die Ursache so hoher Temperatur- 30 steigerungen sein können, ist selbstverständlich, und bei der allgemeinen Verbreitung von thermophilen bezw. thermotoleranten Keimen ist die ursächliche Beteiligung solcher an der Wärmeproduktion auch nicht unwahrscheinlich. Sichergestellt ist es freilich nur in wenigen Fällen, z. B. für den *Aspergillus fumigatus* im Malz (s. Bd. V, S. 259); man 35 vergl. auch § 136. Sonst ist wohl das Vorkommen von solchen Keimen in den zur Selbsterwärmung neigenden Stoffen festgestellt, nicht aber, ob sie bei den die Selbsterwärmung bedingenden Vorgängen eine Rolle spielen, so z. B. beim Tabak (s. Bd. V, S. 6), im Getreide und im Mist (s. Bd. III, S. 420). Bei der Selbsterwärmung des Preßrückstandes der 40 Erdnüsse, des sogen. Bungkil, der als Düngemittel auf Java viel verwendet wird, spielen nach H. VAN DER JAGT (1) die Thermophilen und Thermotoleranten, deren Keime in dem Material nicht fehlen, nur eine unbedeutende Rolle, trotzdem das „Treiben“ des Bungkil sogar zur Selbstentzündung führen kann. Bei künftigen Untersuchungen verdient eine 45 von MIEHE (2) geäußerte Anschauung besondere Berücksichtigung, nach der die sich erhitzenden Pflanzenmassen der natürliche Wohnort mancher für Tiere und Menschen pathogener Mikroorganismen sein dürften.

Nicht immer sind aber Mikroorganismen die Ursache der Wärmebildung in zusammengehäuften Massen organischer Substanz. So er- 50 wärmen sich die keimende Gerste, wie vorher bereits erwähnt, und zusammengehäufte frische Tabakblätter (s. Bd. V, S. 2) zunächst infolge der Eigenatmung. Auf diese ist auch das von OTTO (1) in seiner Wirkung untersuchte „Schwitzen“ der Aepfel in Haufen zurückzuführen;

vergl. Bd. V, S. 62—63. Ebenso ist hierher wohl zu rechnen das Fermentieren der grünen (unreifen) Citronen, durch das nach LEUSCHER (1) bei einer Temperatur von 50° der Zucker zerstört und die Schale dünner werden soll (?). Und so ist sicherlich überall, wo noch lebende Pflanzensubstanz in großen Massen aufgehäuft wird, zunächst deren eigene 5 echte oder intramolekulare Atmung die Ursache der eintretenden Selbsterwärmung.

Auch die enzymatischen Reaktionen besitzen, wenigstens teilweise, eine positive Wärmetönung. So bestimmte RUBNER (3) die Inversionswärme des Rohrzuckers mittelst Hefeninvertin (s. Bd. IV, S. 407) 10 zu 3,29 Cal., übereinstimmend mit dem von STOHMANN berechneten Wert (3,1 Cal.). Freilich ist bei den hydrolysierenden Enzymen diese Wärmebildung nach HERZOG (1) gering, so daß sie infolge nebenherlaufender Prozesse mit negativer Wärmetönung (Lösung der Produkte) und der Wärmeverluste für die Theorie der Selbsterwärmung praktisch sicherlich 15 zu vernachlässigen ist. TANGL (2) und seine Schüler R. VON LENGYEL (1) und P. HÁRI (1) fanden bei proteolytischen Enzymen keine oder verschwindend geringe Wärmebildung. Nur die durch Oxydasen hervorgerufenen, im 27. Kapitel zu betrachtenden Vorgänge sind mit stärkeren Energieumwandlungen verbunden und können sehr wohl als Wärme- 20 quellen in Betracht kommen. LOEW ist (s. Bd. V, S. 12 u. f.) geneigt, auf Oxydasewirkungen die Selbsterwärmung des fermentierenden Tabaks zurückzuführen, und TOLOMEI (1) erklärt die Selbsterhitzung der in Haufen gesetzten Oliven als Folge einer Wirkung der Olivenoxydase, der Olease. 25

Wenn endlich die Temperatur der Selbsterhitzung auch noch die übersteigt, bei der thermophile Organismen eben noch existieren können, und bei der Enzyme ihre Wirksamkeit verlieren, dann sind zweifellos Oxydationsprozesse anderer Art, rein chemische Reaktionen, welche weder von Organismen hervorgerufen noch von so labilen, ausschließlich 30 von Organismen stammenden Katalysatoren, wie die Enzyme es sind, beschleunigt werden, die Ursache der weiteren Selbsterwärmung. Die wiederholt beobachtete Erwärmung und Selbstentzündung zusammengehäufter ölgetränkter Lumpen und der Steinkohlen ist überhaupt nur auf solche Vorgänge zurückzuführen. Wie weit sie sonst in der Natur 35 verbreitet sind, darüber fehlen kritische Untersuchungen. BOEKHOUT und OTT DE VRIES (1 u. 2) führen die Selbsterhitzung des Heues, auf die im § 136 zurückzukommen sein wird, auf rein chemische Prozesse zurück und glauben, daß auch die Tabakfermentation auf solchen beruht; vergl. S. 617. Vielfach ist es wohl von vornherein wahrscheinlicher, 40 daß zunächst die Temperatur durch Eigenatmung, Gärungsorganismen und Enzyme erhöht wird, und daß erst die so erzeugte Wärme die chemische Oxydation ermöglicht bezw. beschleunigt, infolge deren nun die Temperatur noch höher steigt.

§ 134. Die Konservierung des Hopfens. 45

Von den Stoffen, welche in der Praxis die Erscheinung der Selbsterwärmung zeigen, ist der Hopfen einer der wertvollsten und einer der wenigen, bei denen die Ursache der hier vielfach äußerst verderblichen Selbsterwärmung etwas näher verfolgt ist. Daß gerade beim Hopfen die Selbsterwärmung auftritt, hängt mit der handelsüblichen 50

Art seiner Verpackung in Säcke oder Ballen zusammen, Formen, in denen die abkühlend wirkende Oberfläche sehr gering ist.

Wie BEHRENS (2) gezeigt hat, ist die Selbsterwärmung des Hopfens eine Folge der Entwicklung von Organismen in und auf ihm. Deswegen 5 erwärmt sich Hopfen, dessen Wassergehalt 8–10 Proz. nicht überschreitet, überhaupt nicht, und ebenso kann man das Warmwerden („Angehen") und damit das Verderben des Hopfens durch Aufbewahren bei niederer Temperatur verhüten. Dabei, zumal wenn der Sauerstoffzutritt durch Packung in Büchsen möglichst beschränkt wird, hält sich 10 der Hopfen nach der Zusammenstellung der einschlägigen Versuche, die BARTH (1) gegeben hat, lange und gut. Erst wenn Temperatur und Feuchtigkeitsgehalt hoch genug sind, kann Entwicklung der im Hopfen ruhenden Keime von Gärungsorganismen eintreten. Dieselben fehlen dort ebensowenig wie in anderen Naturprodukten. Ihre Zahl ist aller- 15 dings sehr verschieden; man vergleiche darüber Bd. V, S. 166. Weitere Untersuchungen über Mikroorganismen des Hopfens verdanken wir FISCHER und KUENSBERG (1).

Als BEHRENS die Keime durch Sterilisiren in strömendem Wasserdampf abtötete und den Hopfen in einem dem COHN'schen Thermophor 20 nachgebildeten Apparat weiter beobachtete, trat trotz reichlichen Wassergehalts eine Selbsterwärmung nicht ein. Anders, wenn nicht-sterilisierter Hopfen angefeuchtet und dann in den Thermophor gebracht wurde. Dabei wurden von BEHRENS (1 u. 2) als Maximaltemperaturen 42,8 °, 38,5 ° und 33 ° beobachtet. In der Praxis, wo der Wärmeverlust schon in- 25 folge der größeren Massen, die vorliegen, weitaus geringer ist, und wo außerdem der Wassergehalt des Hopfens nicht so groß zu sein pflegt wie bei diesen Versuchen im Kleinen, wird die Temperatur noch höher steigen. Daß Selbstentzündung vorkommen kann, darauf wird im § 137 zurückzukommen sein.

30 Unter den von BEHRENS (2) im angegangenen Hopfen gefundenen Organismen nimmt ein Trimethylamin-Bildner das größte Interesse in Anspruch, der allerdings nicht immer auftrat, aber doch recht häufig zu sein scheint, ein aerobiotisches Stäbchen, das in die nächste Verwandtschaft des *Bacillus fluorescens putridus* FLÜGGE (= *Pseudomonas pu-* 35 *trida* [FLÜGGE] MIG.) gehört und von BEHRENS (1) als *Bac. lupuliperda* bezeichnet wurde. Dasselbe ist zweifellos die Ursache des bereits von GRIESSMAYER (1) und nachher von GRESHOFF (1) nachgewiesenen häufigen Vorkommens von Trimethylamin im Hopfen. Im gesunden Hopfen vermochte BEHRENS dieses Amin nicht zu finden, welches der im ange- 40 gangenen Hopfen gefundene *Bac. lupuliperda* aus Eiweiß- und diesem nahestehenden Stoffen, wohl auch aus Cholin, bildet. In noch größerer Menge entsteht Ammoniak. Auf Bakterientätigkeit dürfte auch das Vorkommen von Buttersäure unter den Bestandteilen des Hopfens zurückzuführen sein. Der *Bac. lupuliperda* selbst bildet, wie die meisten Bak- 45 terien, aus Zucker etwas Buttersäure.

Bei Sauerstoffabschluß entwickelten sich in Hopfenabsuden, die mit Hopfen (Handelsware) infiziert waren, in BEHRENS' Versuchen nur Zucker vergärende Hefen, unter denen eine dem *Saccharomyces* (*Saccharomycodes*) *Ludwigii* nahestehende Form (s. Bd. IV, S. 183) isoliert wurde. Auch 50 FISCHER und KUENSBERG (1) fanden neben Schimmelpilzen und Stäbchenbakterien auch Hefen.

Von weiteren Hopfenverderbern wurden die Schimmelpilze *Aspergillus glaucus* und *Penicillium glaucum* bezüglich ihrer Einwirkung auf

den Hopfen näher studiert. Dabei zeigte sich, daß diese beiden Pilze außer dem Zucker insbesondere die organischen Säuren des Hopfens zerstören. Die ursprünglich saure Reaktion des Hopfens wird in eine alkalische verwandelt. Aus den organischsauren Salzen entstehen Karbonate. Infolge der Reaktionsänderung tritt an die Stelle des natürlichen Grüns eine braune Färbung, hervorgerufen durch ein Chromogen, dessen Oxydation durch alkalische Reaktion außerordentlich begünstigt, ja erst ermöglicht wird. Es wird auf diese postmortalen Färbungen im 27. Kapitel dieses Bandes zurückzukommen sein.

Außer diesen Schimmelpilzen beobachtete Harz (1) noch das Vorkommen folgender auf Hopfen: *Rhizopus nigricans*, *Mucor racemosus*, *M. mucedo*, *Cladosporium penicillioides*, *Haplothrichum roseum*, *Ulocladium botrytis*. Nach Lindner (1) fanden Matthews und Lott häufig das dem *Oidium lactis* nahestehende *Oidium humuli*; vergl. Bd. IV, S. 344.

In Hopfen entwicklungsfähige thermophile bezw. thermotolerante Organismen konnte Behrens (3) aus seinem Handelshopfen nicht züchten. Ob und inwieweit die verschiedenen Hopfenbewohner Warmwerden hervorrufen, ist unbekannt. Sicher ist nur, daß keineswegs nur ein einziger Organismus dazu imstande ist. Auch darf man wohl als gewiß annehmen, daß dem Warmwerden niemals eine durch eine einzige Art in natürlicher „Reinkultur" verursachte Zersetzung (Gärung) zugrunde liegt.

Jedenfalls geht daraus, daß neben obligat aerobiotischen Mikroorganismen auch fakultative Anaerobier im Hopfen vorkommen, hervor, daß die Aufbewahrung unter Luftabschluß oder in Kohlensäure-Atmosphäre, wie sie Jung (1) bereits im Jahre 1875 und später wieder Issleib (1) vorschlug, das Warmwerden nicht absolut verhindern kann, sondern zufolge Nettelton (1) nur eine genügende Trocknung und Lagerung in kalten Räumen. Zur Konservierung des Hopfens verwendet die Praxis seit Liebig's berühmtem Gutachten (1) und seit den dadurch angeregten Versuchen des Generalkomitees des Bayr. landw. Vereins in München (1) das Schwefeln. Nach allgemeiner Ansicht, der auch Fruwirth (1) Ausdruck gibt, soll die schweflige Säure (SO_2) bei ihrer Einwirkung auf den Hopfen insbesondere die in ihm enthaltenen Pilzkeime abtöten. Behrens (2) konnte indes bei seinen Versuchen über die Wirkung der schwefligen Säure auf den Hopfen das nicht bestätigen, trotzdem er größere Mengen Schwefligsäure auf den Hopfen wirken ließ, als in der Praxis üblich ist: Beim Durchleiten von 0,8 g schwefliger Säure durch 10 g Hopfen wurde die anfängliche Keimzahl von 13637600, worunter 422800 Schimmelsporen, nur auf 8056300, darunter 169200 Schimmelkeime, herabgedrückt. Diese Verminderung des Keimgehalts um ca. 40 Proz. genügt nicht, um die anerkannt günstige Wirkung des Schwefelns zu erklären. Bei weiteren Versuchen beobachtete Behrens (3) aber, daß geschwefelter Hopfen und ebenso Absude von solchem viel weniger zum Schimmeln und Verderben neigen als ungeschwefelter Hopfen bezw. Absude desselben. Unter gleichen Verhältnissen, [illegible] gleicher Infektion, blieben erstere schimmelfrei, während letztere [illegible] zersetzten. Die nähere Ursache dieses Verhaltens und die Dauer d[illegible] Nachwirkung des Schwefelns ist noch nicht erforscht. Es ist a[illegible] vermuten, daß irgendwelche Verbindungen der schwefligen Sä[illegible] Hopfenbestandteilen, oder aber durch die Schwefligsäure gebild[illegible] duktionsprodukte von Hopfenbestandteilen derart antiseptisch [illegible] Eine Aenderung der hygroskopischen Eigenschaften des Hopfe[illegible] Folge des Schwefelns konnte nicht nachgewiesen werden.

Angefügt sei noch, daß auch der ausgebraute Hopfen bei dichter Lagerung zur Erwärmung neigt, und daß ein Anonymus (1) vorschlägt denselben an Stelle von Pferdemist zu Warmbeetanlagen zu verwenden.

§ 135. Die Aufbewahrung des Getreides und anderer Sämereien.

5 Von weit größerer wirtschaftlicher Bedeutung als die Frage der Hopfenkonservierung ist die der Aufbewahrung der landwirtschaftlichen Sämereien, insbesondere der Getreidekörner, die ja stets in großen Massen gelagert werden. und bei denen ein Verderben unter Temperatursteigerung der Massen nur zu leicht auftritt. Wie das Getreide selbst, so 10 sind auch dessen Mahlprodukte, Mehl und Kleie, der Gefahr des Warmwerdens ausgesetzt.

Vorbedingung des Warmwerdens ist auch in diesen Fällen, wie beim Hopfen, ein gewisser Wassergehalt. Je feuchter der Samen bezw. das Getreide ist, um so größer ist im allgemeinen auch die Gefahr des 15 Warmwerdens. Mit dem Grade der Trocknung wird die Gefahr geringer. Wie groß der Höchstgehalt an Wasser ist, bei dem die Gefahr aufhört ist noch nicht näher erforscht. Die Feststellung der Grenze begegnet gewissen Schwierigkeiten, da die Feuchtigkeit keineswegs im ganzen Korn gleichmäßig verteilt zu sein braucht. Immerhin wird man an-20 nehmen dürfen, daß bei einem Wassergehalte von höchstens 8—10 Proz. die Gefahr des Warmwerdens ausgeschlossen ist. Gerste darf nach den von SCHULZE (1) mitgeteilten Erfahrungen des Berliner Versuchskornhauses schon bei einem Wassergehalte von 12 Proz. als praktisch durchaus lagerfest gelten. Als besonders leicht zur Selbsterwärmung neigend 25 gilt der Reis, nach ULITZSCH (1) auch Anis.

Die nächsten Ursachen des Warmwerdens der Samenvorräte, insbesondere des Getreides, sind noch nicht genauer untersucht. Abgesehen von rein chemischen unter Wärmeentbindung verlaufenden Prozessen, von denen wir im § 137 noch zu reden haben werden, kommen 30 der Stoffwechsel, die Atmung, einmal der Samen selbst und ferner der auf der Oberfläche der Samen befindlichen Mikroorganismen in Betracht.

Die Eigenatmung des Getreides, die nach dem Vorgange von MUNTZ (1) neuerdings KOLKWITZ (1 u. 2) für Gerste eingehend untersucht hat, ist — und andere hier in Betracht kommende Samen dürften sich kaum 35 abweichend verhalten — im lagerfesten (trockenen) Zustande freilich sehr gering: Lagerfeste Gerste (mit 10—15 Proz. Wassergehalt) bildet pro kg in 24 Stunden nur ca. 0,3—1,5 mg Kohlendioxyd. Mit steigendem Feuchtigkeitsgehalt nimmt indes die Atmungsintensität gewaltig zu. Bei einem Wassergehalt von 20,5 Proz. betrug die Kohlensäureproduktion 40 pro Kilogramm bereits 359 mg, bei einem solchen von 33 Proz. gar 2 g in 24 Stunden. Auch durch Zerkleinerung wird, wie KOLKWITZ fand, die Atmungsintensität verstärkt, so daß Mehl und Schrot bei gleichem Wassergehalt mehr Kohlensäure produzierten als die unverletzten Körner. Inwieweit bei den zerkleinerten Körnern die Atmung 45 von anderen zur Kohlensäurebildung führenden Vorgängen begleitet und vertreten wird, bedarf übrigens noch näherer Untersuchung.

Ebenso wie die Eigenatmung der Samen muß auch die Atmung der ihnen anhaftenden Mikroorganismen eine Wärmeproduktion zur Folge haben. Da auch deren Lebenstätigkeit in ähnlicher Weise von der 50 Menge des ihnen zur Verfügung stehenden Wassers abhängig ist wie

die Eigenatmung der Samen, so sei zunächst kurz auf die Verhältnisse eingegangen, die den Feuchtigkeitsgehalt des Getreides, der Hauptfrucht, welche hier in Betracht kommen kann, bedingen.

Nach HOFFMANN (5) hängt, wie die Ermittelungen der Proviantämter gezeigt haben, der Wassergehalt des Getreides wesentlich von dem 5 relativen Feuchtigkeitsgehalt der Luft ab. Alle anderen Verhältnisse, die in Betracht kommen könnten, (Temperatur, Höhenlage) sind von nur sekundärer Bedeutung, derart daß in der Tat der Wassergehalt lufttrockenen Getreides ein zuverlässiges Maß für den durchschnittlichen relativen Wassergehalt der Luft am Aufbewahrungsort darstellt. Eine 10 Anzahl von Aufsätzen über die Beziehungen zwischen dem Wassergehalt der Luft und dem des Getreides findet man in HOFFMANN's (2) Bericht über das Versuchskornhaus gesammelt. Gefährlich ist besonders der Zutritt warmer Luft zu dem lagernden Getreide, da dann leicht Wasser auf dem kalten Getreide sich niederschlägt, ein Schwitzen (Be- 15 schlagen) des Getreides eintritt. Daß bei der Atmung außer Kohlendioxyd auch Wasser gebildet wird, bedeutet eine innere Ursache möglicher Wasseranreicherung in lagernden Getreidevorräten.

Nebenbei bemerkt, muß natürlich die Wasseraufnahme der Samenkörner als Quellungsvorgang eine Temperatursteigerung bewirken, die 20 allerdings für die Selbsterwärmung der Massen kaum in Betracht kommen dürfte. Wahrscheinlich können auch enzymatische Vorgänge in ruhenden Samenkörnern eine Temperatursteigerung bewirken. Darauf deuten wenigstens KOSUTÁNY's (2) Versuchsergebnisse, die mit Mehl erhalten wurden, hin. 25

Daß Mikroorganismen im Getreide wie in anderen Samenvorräten nicht fehlen, ist bei der reichlich bestehenden Gelegenheit zur Infektion auch ursprünglich keimfreier (im Innern von Kapseln, Schoten u. dergl. gebildeter) Samen eigentlich selbstverständlich. Es sei auf die Untersuchungen von DÜGGELI (1) verwiesen, der allerdings der Ansicht ist, daß die Bakterien- 30 flora der Samen nicht auf zufällige Verunreinigungen zurückzuführen, sondern für jede Art spezifisch und charakteristisch ist. Ueber den Keimgehalt der Gerste vergl. man Bd. V, S. 163 u. f. Ueber den Keimgehalt anderer Getreidearten haben HEINRICH (1) und HOFFMANN (2) Untersuchungen angestellt. Dahin gehören auch die Untersuchungen 35 über den Keimgehalt in Mehl und Schrot, unter denen STEINITZ (1), WOLFF (1) und BLOCH (1) genannt sein mögen. Im übrigen sei auf das 21. und das 25. Kapitel des Zweiten Bandes verwiesen, wo weitere Literatur genannt ist. Bei HOFFMANN's Untersuchungen schwankte der Keimgehalt des Getreides zwischen 74000 und 11640000 (gelatine- 40 wüchsiger Organismen) pro Gramm. Bei trockener Aufbewahrung unter gleichzeitiger Vermeidung von Fremdinfektion nimmt die Keimzahl ab, bei Zutritt von Feuchtigkeit natürlich zu.

Daß das Innere normaler Pflanzensamen keimfrei ist, die Mikroorganismen nur der Oberfläche anhaften, ist heute wohl unbestritten. 45 Die von HILTNER (1) und BERNHEIM (1) stammenden gegenteiligen Angaben sind bereits von BUCHNER (1) widerlegt. Um kräftige Entwickelung der Mikroorganismen der Samen und damit Steigerung der Temperatur hervorzurufen, genügt es deshalb, wenn die Oberfläche der Körner feucht ist, ohne daß der Wassergehalt des gesamten Getreides bezw. des Gesamtkornes besonders hoch zu sein brauchte; das Innere des Kornes kann dabei recht wasserarm sein. Es erschwert d[illegible] exakte Feststellung des niedrigsten Wassergehalts, bei dem noch

erwärmung und Organismenwachstum im Getreide möglich ist, und macht es notwendig, bei darauf gerichteten Untersuchungen mit Mehl zu arbeiten.

Was die Art der auf Samen vorhandenen und bei der Selbsterwärmung mit mehr oder weniger Wahrscheinlichkeit beteiligten Mikroorganismen angeht, so kommen sowohl Bakterien wie Hefen und Schimmelpilze in Betracht. Die letzteren kommen nach HASELHOFF und MACH (1) bei einem 30 Proz. übersteigenden Wassergehalt zur Geltung, während bis dahin die Schimmelpilze vorwalten. KÖNIG, SPIECKERMANN und TILLMANS (1) fanden in Mehl bei einem Wassergehalt von 20 Proz. schon reichliche Vermehrung sporenbildender (kochfester) Bakterien. Ueber das Vorkommen thermophiler und thermotoleranter Organismen im Getreide vergleiche man auch S. 448—449. Im einzelnen fand HOFFMANN (2) in Getreide von Bakterien besonders Formen der *Proteus*-Gruppe (*Bacterium termo* COHN), ferner reichlich normale und wilde Hefen und von Schimmelpilzen ein *Dematium*, dem *D. pullulans* ähnlich, aber in einzelnen Entwickelungsstadien sich mit Jod blau färbend. Ueber das Vorkommen von Keimen aus der Gruppe des *Bacillus mesentericus* und anderen in Mehl vergleiche man das 25. Kapitel des Zweiten Bandes. Ueber die Flora der Gerste speziell findet man auf S. 104 u. 259 des Fünften Bandes nähere Angaben. Nach BROCQ-ROUSSEU (1) macht ein Schimmelpilz, den er als *Streptothrix Dassonvillei* bezeichnet, den Hafer dumpf und ungenießbar. Behandlung mit heißer Luft stellt nach DASSONVILLE und BROCQ-ROUSSEU (1) solchen Hafer wieder her. Ganze Bucheckervorräte verdirbt nach R. HARTIG (1) der *Mucor mucedo*. Auf verdorbenen Kastanien (*Castanea vesca*) fand PEGLION (1) toxische Formen von *Penicillium glaucum*.

Unter Verweisung auf das 21. Kapitel des Zweiten Bandes sei hier nur kurz noch auf die eigenartige Flora gewisser, infolge Selbsterwärmung verdorbener und dadurch gesundheitsschädlich gewordener Getreidevorräte eingegangen. So kann Roggen, der feucht gewachsen und eingebracht ist, eigenartige Gesundheitsstörungen (Schwindel, Kopfschmerzen, Störung des Sehvermögens u. dergl.) hervorrufen; vergl. Bd. V, S. 259. Solcher Taumelroggen („trunkenes Getreide") ist in niederschlagsreichen Gegenden, z. B. in Schweden, Teilen Rußlands usw., gar nicht selten, von PRILLIEUX (1) aber im Jahre 1890 auch in Südfrankreich beobachtet worden. ERIKSSON (2), der schwedischen Taumelroggen untersuchte, hielt *Cladosporium herbarum*, durch welches die Körner geschwärzt waren, für die Ursache. Denselben Pilz neben zehn anderen fand auch WORONIN (1). Indes erwies er sich bei Fütterungsversuchen LOPRIORE's (1) als unschädlich. Nach WORONIN, der darin die Ergebnisse SOROKIN's (1) bestätigt, kommen *Fusarium*-Formen (s. Bd. III, S. 412) auf Taumelgetreide häufig vor, was auch von JATSCHEWSKI (1) sowie von PRILLIEUX und DELACROIX (1) bestätigt wird. PRILLIEUX (1) macht indessen, auch in Gemeinschaft mit DELACROIX (1 u. 2), für die krankheitserregenden Eigenschaften des Taumelroggens den Pilz *Endoconidium temulentum* verantwortlich, der als Konidienform zu *Phialea temulenta* gehören soll, die im Jahre 1896 von PRILLIEUX (2) zur Gattung *Sclerotinia* gestellt wurde. Man vergleiche auch S. 278.

Während es beim Taumelroggen immerhin noch fraglich ist, ob der Erwerb der Gesundheitsschädlichkeit auch auf dem Lager erfolgen kann, trifft das für eine andere Getreideart, den Mais, sicher zu. Es ist bekannt, daß dort, wo der Mais eine Hauptnahrung des Volkes bildet,

eine eigenartige Krankheit, die Pellagra, nicht selten im Gefolge des Genusses von Maismehl auftritt. Mit den durch Taumelgetreide hervorgerufenen Krankheitserscheinungen und mit dem durch Mutterkorn-Genuß erzeugten Ergotismus (s. 25. Kap. d. II. Bds.) haben die Erscheinungen der Pellagra viele Aehnlichkeit. Nach KLUCZENKO (1) beginnt die 5 Pellagra mit Verdauungsstörungen, denen bald Kopfschmerzen, rauschartige Betäubung, Denkträgheit und Irrsinn folgen, und mit denen auch Hauterscheinungen (schmerzhafte Rötung und Anschwellung, Abschuppung u. dergl.) Hand in Hand gehen. Ursache ist stets Genuß von Mais, der durch Lagern in feuchtem Zustande, Havarie u. dergl. unter Schimmelbildung 10 verdorben ist. LOMBROSO (1) stellte aus verschimmeltem (verdächtigem) Mais Auszüge dar, welche schädlich auf den Organismus wirkten. Die Schimmel sollen *Aspergillus-*, *Penicillium-* und *Mucor-*Arten sein. Neuere Untersuchungen über die Pilzflora von verdächtigem Mais verdanken wir TIRABOSCHI (1). Nach LEWIN (1) soll speziell ein „*Penicillium Maydis*“ 15 der Gifterzeugung verdächtig sein. PALTAUF und HEIDER (1) vermochten dagegen mit den Toxinen des „*Bacillus Maydis*“, den CUBONI auf feuchten Maiskörnern und in den Fäces von Pellagra-Kranken gefunden hatte, bei weißen Mäusen Krankheitserscheinungen hervorzurufen. Zu ähnlichen Ergebnissen kam TIRELLI (1). BRUGNATELLI und ZENONI (1) 20 fanden in verschimmeltem Maismehl ein giftiges, dem Strychnin ähnlich wirkendes Alkaloid (Ptomain), das in Wasser unlöslich sein soll. Dagegen konnten BABES und MANICATIDE (1) mit wässerigen und alkoholischen Auszügen aus verdorbenem Mais, der aus einem Pellagragebiet stammte, bei Meerschweinchen der Pellagra ähnliche Erscheinungen 25 hervorrufen. GRIMALDI (1) bestätigte das Vorkommen eines Alkaloids in verdorbenem Maismehl. Niemals fehlen aber auch nach GRIMALDI in solchem die in Wasser und in Alkohol löslichen phenolartigen Gifte, welche GOSIO (1) mit Eisenchlorid nachweisen lehrte, und welche durch ein „*Penicillium glaucum*“ gebildet werden sollen. Aehnliche Körper 30 fand PEGLION (1) nach der GOSIO'schen Methode in Edelkastanien, die durch ein „*Penicillium glaucum*“, nicht aber auch in solchen, die durch andere Pilze verdorben waren. Wie SCHINDLER (1) mitteilt, ist übrigens die GOSIO'sche Methode, die Gefährlichkeit eines Maismehles nachzuweisen, für die Praxis der Kontrolltätigkeit noch zu unsicher. Mais in 35 Körnern wird in Tirol und Italien als Nahrungsmittel beanstandet, wenn er mehr als 5 Proz. verdorbene Körner enthält.

Vielleicht hängt auch die in Japan, Indien usw. endemische Beriberi-Krankheit, die der Pellagra bis zu einem gewissen Grade ähnelt, mit dem Genuß von verdorbenem Reis zusammen, zumal diese Getreideart 40 besonders zum Warmwerden neigt. Auch der infolge Verfütterung von Buchweizen mitunter eintretende Fagopyrismus hat in seinen Symptomen viele Aehnlichkeit mit der Pellagra und wird vielleicht auch in ähnlicher Weise hervorgerufen.

Uebrigens dürften gerade für die völlige Aufhellung der eben be- 45 trachteten Beziehungen zwischen der Nahrung und der Pellagra usw. die bereits citierten Betrachtungen MIEHE's (2) über die natürlichen Standorte der Krankheitserreger sich als fruchtbar erweisen.

Der Gefahr der Selbsterwärmung sind erfahrungsgemäß die Rübensamenvorräte (Zucker- und Runkelrübe) sehr ausgesetzt, deren Keimfähig- 50 keit vielfach darunter leidet; vergl. GRASSMANN (1) und BRIEM (1). Nach HILTNER und PETERS (1) könnte es, abgesehen von der direkten Schädigung der Keimkraft durch die Hitze, scheinen, als ob in den Knäueln durch

Gärungsvorgänge bei der Selbsterwärmung Stoffe erzeugt würden, welche den sogen. Wurzelbrand der Rüben verursachten, indem sie den Keimling schwächten und für die Angriffe sonst rein saprophytischer Pilze und Bakterien zugänglich machten. Nach neuen Untersuchungen von PETERS (1) ist diese Wirkung freilich sehr fraglich geworden, indem er gezeigt hat, daß verschiedene parasitische Pilze den Wurzelbrand hervorrufen.

Neben der Zerstörung der Keimfähigkeit, dem Verderben durch Verpilzen und Verfaulen, der Annahme giftiger Eigenschaften u. dergl. schadet die Selbsterwärmung bei Getreide und anderen als Nahrungsmittel dienenden Samen auch dadurch, daß die Erhitzung das Eiweiß weniger gut verdaulich macht. Es wird darauf noch im § 136 einzugehen sein. Nach KOSUTÁNY (1) nimmt auch die Backfähigkeit des Mehles durch höhere Temperaturen ab.

Einige qualitative Beobachtungen über die Temperatursteigerung in Getreidevorräten hat MARIENHAGEN (1) veröffentlicht. Die höchste von ihm beobachtete Temperatur in einem 1,5—2 m hohen Maisvorrat (von 16 Proz. Wassergehalt) betrug 52° C und wurde ca. 0,25 m unter der Oberfläche gefunden. Bei Kleie hat HOFFMANN (1) in Laboratoriumsversuchen 56° als Maximum beobachtet, aber wahrscheinlich gemacht, daß unter Umständen beträchtlich höhere Temperatursteigerungen zustande kommen können. Darauf wird später zurückzukommen sein.

Das radikalste Gegenmittel gegen das Verderben des Getreides auf dem Lager besteht darin, daß es einmal genügend trocken aufs Lager kommt, und daß ferner die nachträgliche Wasseraufnahme aus der Luft möglichst erschwert wird. Soweit die klimatischen Verhältnisse zu ungünstig sind, als daß man sicher auf einen genügenden Trockenheitsgrad beim Trocknen an der Luft rechnen könnte, muß eben, wie das in nördlichen Ländern längst üblich ist, Trocknung mittels künstlicher Wärme (Heizgase, Dampf) zu Hilfe genommen werden. Die künstliche Trocknung des Getreides und, was damit zusammenhängt, der Handel nach Trockensubstanz ist auch in Deutschland in den letzten Jahren zu einer Frage von allgemeinem Interesse geworden. Näheres über Verfahren und über Trocknungsapparate findet man in dem schon wiederholt citierten Buche von HOFFMANN (2). Ueber die Wirkung des Trocknens auf das Getreide, insbesondere auch über die Wirkung verschieden hoher Temperaturen, handelt ferner eine sehr gründliche Arbeit KIESSLING's (1), in welcher auch ältere Literatur angezogen ist. Das getrocknete wasserarme Getreide hält sich in geschlossenen Silos lange, wenn auch natürlich nicht unbegrenzt lange; man vergleiche darüber HOFFMANN (3).

§ 136. Brennheu- und Braunheubereitung. Tabakfermentation.

Schon beim einfachen Trocknen der frischen Kräuter im Freien, also bei der gewöhnlichen Art der Heuwerbung, findet nach der Auffassung von HOLDEFLEISS (1 u. 2) eine Art Gärung statt, welche dem Heu seine eigentümliche Beschaffenheit gibt, es für die Tiere wohlschmeckender und gedeihlicher macht. Diese „Gärung", an der indes Mikroorganismen kaum beteiligt sind, die vielmehr wesentlich in der Fortdauer von Stoffwechselprozessen, solange die Kräuter noch leben, und im Eintreten von enzymatischen Spaltungen und Umwandlungen

nach dem Tode der Käruter bestehen dürften, tritt am vollkommensten ein, wenn das oberflächlich abgewelkte Futter bald in Haufen oder noch besser in Reuter zusammengesetzt wird. Schnell an der Sonne u. dergl. getrocknetes Heu zeigt infolge des Unterbleibens dieser „Gärung" einen Mangel an Aroma, an Geruch- und Geschmackstoffen, sodaß es weniger angenehm und bekömmlich ist.

Diesen, wohl nur uneigentlich Gärung zu nennenden Vorgängen, bei denen vielleicht auch Glycosidspaltungen im Spiel sind (Cumarinbildung), folgt nach dem Einlagern des Heus in den Speicher eine Selbsterwärmung, das sogen. Schwitzen, das in ähnlicher Weise auch die eingebrachten Getreidevorräte (Garben) zeigen. Obgleich der Vorgang, der, wie der Name andeutet, durch Niederschlagen der aus dem warmen Innern verdunstenden Feuchtigkeit an der Oberfläche der Heu- und Getreidemassen auch äußerlich in die Erscheinung tritt, eine wissenschaftliche Bearbeitung noch nicht gefunden hat, kann doch kein Zweifel sein, daß er durch ähnliche Ursachen bedingt wird wie die im Nachfolgenden zu betrachtenden Fälle der Selbsterwärmung von Heu.

Während das normale Schwitzen des Heus ein unbeabsichtigt sich einstellender Vorgang von unbekanntem oder sogar zweifelhaftem wirtschaftlichem Wert ist, benutzt man in anderen Fällen die beim Zusammenpacken größerer Heumassen entstehende Selbsterwärmung bewußt zur Konservierung, und zwar bei der Bereitung von Brennheu und von Braunheu, während bei der auf S. 329 u. f. des Zweiten Bandes behandelten Bereitung von Sauer- und Grünpreßfutter die Erwärmung eigentlich nur ein sekundärer Begleitvorgang des Konservierungsverfahrens ist. Näheres über diese Prozesse findet man in den Handbüchern der Futtermittelbereitung und Tierernährung, z. B. bei ALBERT (3), BÖHMER (2), KELLNER (1).

Bei der **Brennheubereitung,** die von dem Pfarrer KLAPPMEYER entdeckt und beschrieben ist, bringt man die frisch gemähten, von Regen und Tau freien, also oberflächlich trockenen Pflanzen in große Haufen, die man möglichst fest zusammentritt, damit Schimmelbildung vermieden wird. In den Haufen tritt dann Selbsterhitzung ein, die man unterbricht, nachdem die Temperatur im Innern auf 60—70° gestiegen ist. Die Pflanzenteile nehmen dabei eine bräunliche Färbung und einen weinartigen Geruch an. Sobald das Heu diesen Grad der Reife erreicht hat, was schon nach 1—2 Tagen der Fall sein wird, werden die Haufen sofort auseinander geworfen und gebreitet. Die heißen Pflanzen, die infolge der großen Hitze abgestorben sind, trocknen außerordentlich schnell. Man benutzt also hier direkt die Selbsterhitzung als Wärmequelle zum Dörren. WEISKE (1 u. 2), der Untersuchungen über die Veränderungen von Luzerne bei der Brennheubereitung angestellt hat, findet, daß dabei hauptsächlich stickstofffreie Nährstoffe zerstört werden. Herrscht günstiges Wetter, so ist die Brennheubereitung mit weniger Verlusten verbunden als die gewöhnliche Art der Dürrheubereitung, bei der die mechanischen Verluste sehr groß sind. Herrscht aber, wenn die Brennheuhaufen reif werden, ungünstige Witterung, sodaß man nicht breiten kann, so läuft man Gefahr, daß alles verdirbt, bezw. daß, wenn man bei Regenwetter doch breitet, das Heu vollständig ausgelaugt wird. Die Brennheugewinnung hat daher nicht viel Verbreitung in der landwirtschaftlichen Praxis gefunden. Wie jede mit starker Temperaturerhöhung arbeitende Art der Futterbereitung, ist auch bei der Brennheubereitung mit einer Verringerung der Verdaulichkeit der Eiweißstoffe

zu rechnen, die allerdings WEISKE entsprechend der nicht langen Dauer und verhältnismäßig geringen Höhe der Temperatursteigerung nur gering fand. Bei der Brennheubereitung dürfte zunächst die Atmungstätigkeit der lebenden Pflanzen, wie nach BABCOCK und RUSSEL (1) beim Gärfutter (Silage), die Ursache der Temperatursteigerung sein. Nur nebenbei dürften auch Mikroorganismen zur Wirkung gelangen. Nach dem Geruch zu urteilen, könnten unter diesen Alkoholbildner (Hefen) eine Rolle spielen, wenn auch eine intramolekulare Atmung im Innern der Haufen schon zur Erklärung ausreichen würde, sofern der Geruch überhaupt auf Alkoholbildung beruht, was auch noch festzustellen ist. Uebrigens kommen bei der Brennheubildung natürlich alle später zu betrachtenden Faktoren der Selbsterwärmung des Heus in Betracht.

Bei der **Braunheubereitung** läßt man die Futterpflanzen zunächst abwelken, bis sie nur noch einen Wassergehalt von nicht mehr als 45 bis 50 Proz. besitzen, und setzt sie dann zu kleineren oder größeren Feimen (Haufen) zusammen. In Holstein gibt man den Feimen („Schweißdiemen“) unten einen Durchmesser von ca. 3 m und eine Höhe von 4—5 m. Größere, schwieriger herzustellende Feimen erhalten an der Basis einen Durchmesser von 4—5 m. Besondere Sorgfalt muß darauf verwendet werden, daß das Futter recht fest und gleichmäßig gelagert wird. Jede Lücke, jeder Hohlraum gibt Gelegenheit zur Schimmelbildung, und bei lockerer Lagerung ist die Gefahr der Selbstentzündung, besonders in großen Feimen, eine überaus große. Die Feimen werden oben mit Stroh und dergl. abgedeckt. Man vergleiche darüber FALKE (1 u. 2). In richtig konstruierten Feimen tritt nach kurzer Zeit die Selbsterhitzung ein, die naturgemäß in den großen Feimen eine stärkere ist als in den Schweißdiemen. Dementsprechend wird das Futter in letzteren vielfach nur schwach gebräunt. Während der Gärung setzt sich die Feime infolge der Wasserverdunstung und des Verlustes an Trockensubstanz allmählich. Beobachtet sind Temperatursteigerungen bis auf 75, ja über 90° in großen Feimen. Nachdem das Maximum erreicht ist, tritt in normalen Fällen wieder Abkühlung ein. Gelungenes Braunheu hat, je nach dem Grade der Selbsterhitzung, eine hell- bis dunkelbraune, unter Umständen schwarze Farbe, besitzt ein angenehmes brot- oder honigartiges Aroma und wird vom Vieh gern gefressen. Daß die Braunheugärung im Grunde nichts anderes ist als das sogen. Schwitzen des Heus, folgt schon daraus, daß auch bei diesem, wenn die Temperatur infolge größeren Wassergehalts höher steigt, typisches Braunheu entsteht. Die Veränderungen, welche das Futter bei der Braunheubereitung in bezug auf Zusammensetzung und Verdaulichkeit erleidet, sind von WEISKE (2), KÜHN (1), ALBERT (1, 2, 3) und FALKE (1 u. 2) untersucht worden. Danach ist auch die Braunheubereitung mit einer in den Einzelfällen verschieden großen Einbuße an Menge und Verdaulichkeit der Bestandteile verbunden. Je intensiver die Gärung verlief, je höher also die Temperatur stieg, um so mehr litt auch die Verdaulichkeit des Proteins. In sehr dunkel gefärbtem Braunheu sind, wie eine Zusammenstellung ALBERT's (3 S. 124) zeigt, die Proteinstoffe unter Umständen überhaupt nicht mehr verdaulich. Es ist das eine Folge der Einwirkung höherer Temperatur auf Eiweißstoffe, aus denen dabei nach NEUMEISTER (1) Körper entstehen, die gegen Verdauungsenzyme sehr resistent sind; vergl. VOLHARD (1) sowie SALECKER und STUTZER (1). Die Substanzverluste treffen hauptsächlich die stickstofffreien Extraktstoffe, speziell die Kohlenhydrate (Pentosane, Zucker

u. dergl.). DIETRICH (1) findet im Braunheu nicht unbeträchtliche Mengen von Milchsäure und Buttersäure sowie geringe Mengen von anderen Fettsäuren (Essigsäure, Caprylsäure, Baldriansäure und Bernsteinsäure), die durch die Gärung gebildet worden sein dürften. BOEKHOUT und OTT DE VRIES (1 u. 2) fanden, daß bei der Selbsterhitzung 5 des Heus Ameisensäure und, wie zu erwarten, Kohlensäure gebildet werden. In den untersuchten Haufen wurden Temperaturen von 85 bis 96° C beobachtet. Unter den möglichen Ursachen der Erwärmung scheidet bei der Braunheubereitung die Eigenatmung aus, da das Material bereits in halbdürrem, also wohl größtenteils totem Zustande in 10 die Haufen kommt. Es bleiben nur die Tätigkeit der Mikroorganismen und die auf rein chemischen Ursachen beruhenden Vorgänge in den Haufen übrig.

Der erste, der die Organismen des sich erwärmenden Heus näher untersuchte, war F. COHN (2), der den Heubazillus für den Urheber der 15 Selbsterwärmung hielt. Dagegen fand EMMERLING (1) in einem Braunheu (s. Bd. II, S. 335), in dem, nach der Zusammensetzung der entwickelten Gase, nämlich 64 Proz. Kohlensäure und 36 Proz. Stickstoff, zu urteilen, wenigstens zeitweise anaerobe Gärungen stattgefunden hatten, Spuren von Schimmelpilzen (meist *Mucor*-Arten), ferner Heubazillen, 20 *Granulobacter*, mehrere Kokkenarten und recht häufig den *Bacillus mycoides*; dagegen fehlten die gewöhnlichen Milchsäurebakterien. Ueber einen thermophilen *Actinomyces* (s. Bd. III, S. 213) im Heu vergleiche man S. 449. Es fehlen also auch thermophile bezw. thermotolerante Organismen nicht, welche immerhin Temperaturen bis zu ca. 70° er- 25 tragen und hervorrufen könnten.

Soweit die Temperatursteigerung noch höher geht, ist die Mitwirkung von Organismen ausgeschlossen, und es können nur rein chemische Prozesse dabei wirksam sein. Wir werden im § 137 darauf zurückkommen. Jedenfalls berechtigen aber die Versuche von BOEKHOUT und OTT DE 30 VRIES (1 u. 2), denen es gelang, durch längeres Erhitzen auf 95—100° Heu in typisches Braunheu zu verwandeln, nicht zu dem Schlusse, daß bei der Braunheubereitung in der Praxis Gärungen überhaupt keine Rolle spielen, und daß der ganze Prozeß ein rein chemischer sei, sondern nur zu dem, daß auch durch künstliche Wärme sich ein Produkt mit 35 den Eigenschaften des typischen Braunheus herstellen läßt.

MIEHE (1) konnte denn auch bei seinen Versuchen[1]) eine Selbsterwärmung sterilisierten Heus nicht beobachten. Dieselbe trat erst ein, wenn das Heu wieder mit Mikroorganismen infiziert war. Impfung mit *Bacillus subtilis* brachte indes keine Selbsterwärmung hervor. Daraus 40 und aus der Tatsache, daß bereits eine Sterilisierungszeit von 10 Minuten (in strömendem Dampf) genügt, um die Erwärmungsfähigkeit zu zerstören, folgt, daß die Ansicht COHN's irrig war. *Aspergillus niger* und *A. fumigatus* dagegen vermochten ziemlich starke Erwärmung hervorzurufen. 45

Die direkte Prüfung der Flora heißen Heues ergab indessen ganz andere Organismen: In jedem spontan auf 70° und höher erhitzten Heu, das vielfach schon makroskopisch sichtbare weiße schimmelartige Flecke zeigte, bestehend aus zahlreichen Bakteriensporen, wurde, und zwar der Zahl nach bei weitem vorwaltend, ein thermophiler Bazillus ge- 50

[1]) MIEHE's ausführliche Arbeit (Die Selbsterhitzung des Heus. Jena, G. Fischer. 1907) konnte für die vorliegende Darstellung leider nicht mehr benutzt werden.

züchtet, dessen Endosporen gegen feuchte Hitze ganz außerordentlich widerstandsfähig waren. Der Bazillus wuchs erst bei mindestens 40° und noch bei 70° C; das Temperaturmaximum wurde nicht festgestellt. Da sein Temperaturminimum sehr hoch liegt, so kann dieser Bazillus
5 an den Anfangsstadien der Erwärmung nicht beteiligt sein, während der Nachweis seiner ursächlichen Beziehungen zu der weiteren Temperatursteigerung gelungen ist. Als „Vorwärmer" dürften nach MIEHE in einem auf 30° erwärmten Heu ein dem *Bact. coli* nahestehender Bazillus, ein *Oidium*, dem die wichtigste Rolle zufällt, und eine *Mucor*-Art (Maximum
10 überall 35°), in 40° warmem Heu zwei in geringem Grade thermotolerante, Endosporen bildende Stäbchenbakterien zu betrachten sein. Auch einige Schädlinge der Braunheubildung wurden in einem thermophilen Schimmel (bei 33—60° wachsend) und einer noch bei 55° gedeihenden *Streptothrix*-Art gefunden. Nach einer weiteren Mitteilung
15 MIEHE's (2) ist auch der pathogene *Mucor pusillus*, mit dem Temperaturoptimum von 40°, häufig in werdendem Braunheu tätig. Die Ergebnisse MIEHE's sind soeben von DÜGGELI (2) bestätigt worden. Auf die Untersuchungen ROSSI's (2) über die Selbsterwärmung des Heus sei nur kurz hingewiesen.

20 Während durch die Untersuchungen MIEHE's die Rolle der Gärungsorganismen beim Warmwerden des Heus sichergestellt sein dürfte, ist das für einen mit der Braunheubereitung verwandten Prozeß, die **Fermentation** des **Tabaks,** die im 1. Kapitel des Fünften Bandes im Zusammenhange behandelt ist, seit dem Erscheinen dieses Kapitels keines-
25 wegs wahrscheinlicher geworden. Wie dort ausgeführt ist, stehen zwei Ansichten einander gegenüber. Nach der älteren, der auch MIEHE (1) beipflichtet, ist die Fermentation eine von Mikroorganismen hervorgerufene Gärung, nach der Ansicht von LOEW dagegen ist sie ein Vorgang, der durch oxydierende Enzyme hervorgerufen wird. JENSEN (1)
30 konnte nun nicht nur durch kurzzeitiges Erhitzen in strömendem Wasserdampf Tabakblättern die Eigenschaften typischen ausfermentierten Tabaks verleihen, sondern beobachtete Selbsterwärmung auch in Tabakhaufen, deren Blätter mit Sublimat behandelt, oder die mit Formoldampf erfüllt waren, und zwar beides so stark, daß die Ent-
35 wicklung von Mikroorganismen ausgeschlossen war. Auch chloroformierte Haufen sah JENSEN (2) sich erwärmen. Danach scheint die Selbsterwärmung des Tabaks ebensowohl wie die Veränderung, welche die Fermentation an den Blättern bewirkt, in der Tat bei Ausschluß der Tätigkeit von Gärungsorganismen, aber auch von Enzymen (aus-
40 geschlossen durch Hitze, Sublimat, z. T. auch Formalin) eintreten zu können. Es bleibt aber natürlich die Möglichkeit, daß beide oder doch eine von beiden in der Praxis der Fermentation doch eine mehr oder weniger wichtige Rolle spielen. Eine Darstellung des Standes unserer Kenntnisse über die Tabakfermentation hat inzwischen DELACROIX (1)
45 gegeben, der sich einer von BERTRAND geäußerten Ansicht anschließt. Danach sind bei der Tabakfermentation allerdings Enzyme, u. a. auch die proteolytischen und diastatischen, beteiligt, spielen indes Bakterien die Hauptrolle. Auch ROSSI (1) hat sich kritisch über die Theorien der Tabakfermentation geäußert. Nach JETTA (1, 2, 3) nimmt bei und
50 infolge der Dachbehandlung und Fermentation der Pentosangehalt des Tabaks mehr oder weniger ab.

§ 137. Die Selbstentzündung.

Sofern es sich um verhältnismäßig wasserarmes Material handelt, oder wenn während der Selbsterhitzung und durch dieselbe die ursprünglich vorhandene Feuchtigkeit verdampft ist, kommt es nicht gerade selten in zusammengehäuften organischen Massen zur Selbstentzündung. Lange Zeit stand die Wissenschaft dem Glauben des Volkes an die Selbstentzündung von Heu u. dergl. ungläubig und überlegen lächelnd gegenüber, bis zu Anfang der siebziger Jahre endlich durch die Beobachtungen von RANKE (1) das tatsächliche Vorkommen solcher Fälle über jeden Zweifel hinaus festgestellt wurde.

In diesem Falle, wie in vielen anderen, die zum Teil von MEDEM (1, 2, 3) gesammelt sind, — man vergleiche aber auch Gutsverwaltung Rathshof (1), MACH und PORTELE (1), WIDMANN (1) — handelt es sich um Heumassen, die in Mieten oder Heustöcken zusammengesetzt waren und sich, wohl weil zu feucht, abnorm stark erhitzten, die Braunheugärung erlitten. Soweit nicht ein unvorhergesehener Brand ausbrach, zeigte sich beim Abräumen der abnorm stark zusammengesunkenen Haufen in der Mitte das Heu zu schwarzer Kohle verändert, die bei Luftzutritt Feuer fing. Nach vielfacher Erfahrung darf das sogen. Grummet für weit gefährlicher, weil mehr zur Selbsterwärmung und Selbstentzündung neigend, gelten als das Sommerheu des ersten Schnittes. Worauf das zurückzuführen ist, bleibt fraglich. Man macht teils den oft weniger günstigen Trockenheitszustand, teils die mechanische Struktur des Grummets dafür verantwortlich. Zur Zeit der Grummeternte sind die Trocknungsbedingungen im allgemeinen weniger günstig als zur Zeit der Heuernte, und andererseits verhindert der Reichtum des Grummets an groben, sperrigen Stengeln ein dichtes Zusammenpacken, erleichtert dagegen den Zutritt der zu stärkerer Selbsterhitzung und zur Selbstentzündung nötigen Luft.

Weil am häufigsten vorkommend, ist die Selbstentzündung des Heus am öftesten Gegenstand der Forschung gewesen, die allerdings zu befriedigenden Resultaten bisher nicht geführt hat. Nach dem heutigen Stande unseres Wissens über die Ursachen der Selbsterwärmung des Heus, die im vorhergehenden Paragraphen dargestellt ist, dürfen wir in einer durch Mikroorganismen verursachten Gärung die Ursache der Temperatursteigerung sehen. Es ist aber zweifellos, daß durch Organismentätigkeit die Temperatur durchaus nicht über die Grenze gesteigert werden kann, bei der überhaupt Organismentätigkeit noch möglich ist. Diese Grenze liegt bei ca. 70°. Sofern die Selbstentzündung darauf beruhen sollte, daß die Temperatur im Innern der sich erwärmenden Haufen auf die jedenfalls stets weit höher liegende Entzündungstemperatur des Materials gesteigert wird, könnten an der Steigerung der Temperatur über 70° Vorgänge biologischer Natur nicht mehr beteiligt sein, und es bliebe nur übrig, an rein chemische exotherme Vorgänge als Ursachen zu denken. So stellt sich z. B. BERTHELOT (3) das Zustandekommen der Selbstentzündung vor.

Leider liegen exakte Messungen der Temperatur in solchen Teilen von heißen Heustöcken u. dergl., die selbstentzündlich geworden sind, nicht vor, und fast ebensowenig wissen wir über die Entzündungstemperaturen der verschiedenen hier in Betracht kommenden Stoffe.

Hoffmann (1) hat für Kleie Selbstentzündung bei 144—176° C und Eintreten einer stürmischen Zersetzung bei ca. 130° beobachtet.

Daß solche und noch höhere Temperaturen in selbstentzündlichen, noch nicht brennenden Partien von Heuhaufen u. dergl. vorkommen, dafür hat man keinerlei Beweis. Im Gegenteil deuten die Erfahrungen der Praxis, wie Medem (1) hervorhebt, durchaus darauf hin, daß in den selbstentzündlichen Partien keineswegs so extrem hohe Temperaturen herrschen, und damit wird eine andere Erklärung des Vorgangs der Selbstentzündung wahrscheinlicher: Nach dieser wird durch die Gärungsorganismen, die lange dauernde Wirkung der höheren Temperaturen u. dergl. das Heu bezw. allgemein gesprochen die organische Masse „pyrophor", sie nimmt die Eigenschaft an, an der Luft sich zu entzünden. Daß etwas derartiges denkbar ist, hat schon Ranke (1) nachgewiesen. Dieser unterwarf Heu in einer Retorte bei 250—300° der trockenen Destillation. Als er dann die restierende, noch nicht erschöpfte Heukohle auf den Tisch schüttete, kühlte sie sich zunächst so weit ab, daß man sie mit den Fingern anfassen konnte, geriet aber dann unter Temperatursteigerung zunächst an einzelnen Stellen, dann überall in Brand. Der Versuch Ranke's wurde mit gleichem Ergebnis von Wohltmann (1) und von Herzfeld (1), von letzterem in modifizierter Form, sowie von Hoffmann (1) wiederholt. Letzterer stellte auch aus Kleie eine pyrophore, d. h. bei Zimmertemperatur sich entzündende Kohle dar. Die Theorie geht nun dahin, daß, wie in den Experimenten die kurze Einwirkung höherer Temperaturen (200—300°), so unter den Verhältnissen der Praxis die längere Dauer der Einwirkung niederer Temperaturen bezw. direkt die Tätigkeit von Mikroorganismen die Stoffe in den pyrophoren Zustand überführen könne.

Außer Heu und Kleie führt Haepke (1) eine große Zahl von Stoffen an, welche der Selbstentzündung verfallen können. Von besonderem Interesse ist darunter der Tabak: Besonders Brasiltabakballen sollen in Bremen oft verkohlt ankommen und durch Selbstentzündung schon Brände verursacht haben. Ein Fall der Selbstentzündung von feuchtem Lupulin soll in Bremerhafen beobachtet worden sein. Weiter wird die Möglichkeit der Selbstentzündung angegeben für Getreide, Mehl, Kaffee, Gewürze u. dergl. m.

Nicht hierher gehören, weil sicher oder doch wahrscheinlich ohne Beziehungen zu Gärungsorganismen, die Selbstentzündung der Steinkohle, geölter und fettiger Baumwollen- und anderer Textilfasern u. dergl. m. Man vergleiche darüber auch Böhmer (2). Ob nicht die Selbsterwärmung feuchter Faserabfälle (Nissel, Jute usw.) auch bis zur Selbstentzündung führen kann, ist ungewiß. Selbsterwärmung der Torfstreu ist nach Tacke (1) noch nicht beobachtet worden. Mir ist ein Fall mitgeteilt worden, in dem Selbstentzündung von mit verdünntem Alkali (Natronwasserglas) behandeltem Torf beobachtet worden ist. Auch an gemahlenen Kaffeesurrogaten hat man nach Lehmann (1) wiederholt Selbstentzündung beobachtet: da das Material geröstet ist, kann es sich dabei auch in den Anfangsstadien kaum um Gärungsvorgänge handeln.

Zur Vermeidung der Gefahr der Selbstentzündung im Gefolge von Gärungen genügt entsprechende Trockenheit des Materials sowie Aufstapelung bezw. Verpackung in nicht zu großen Haufen und Massen, damit etwa entwickelte Wärme durch Leitung und Strahlung sofort abgegeben wird. Andererseits soll man tunlichst dicht und fest lagern, um den Luftzutritt auszuschließen. Für Heu empfiehlt man ferner Einstreuen

von Salz; vgl. GUNDLACH (1). Jedenfalls ist eine stetige Beobachtung gefährdeter Vorräte angezeigt.

Literatur

zum Kapitel Thermogene Bakterien.

*Albert, Fr., (1) Jahrb. d. Deutsch. Landw.-Ges., 1891, Bd. 6, Teil 1, S. 149. — (2) Mitteil. d. Deutsch. Landw.-Ges., 1893 94, Bd. 2, S. 14. — (3) Die Konservierung der Futterpflanzen. Berlin 1903. *Anonymus, (1) Der Bierbrauer, N. F., 1883, Bd. 14, S. 505. — (2) Der Tropenpflanzer, 1904, Bd. 8, S. 397. *Babcock, S. M., und Russel, H. L., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 81. *Babes und Manicatide, (1) Hyg. Rundsch., 1900, Bd. 10, S. 1114. *Barth, G., (1) Z. f. d. ges. Brauwesen, 1898, Bd. 21, S. 639. *Behrens, J., (1) Arb. d. bakt. Instit. d. techn. Hochsch. Karlsruhe, 1894, Bd. 1, S. 187; ref. in Kochs Jahresb., 1894, Bd. 5, S. 76. — (2) W. f. Brauerei, 1896, Bd. 13, S. 802. — (3) Ebenda, S. 946. *Bernheim, H., (1) Münch. med. Wochenschr., 1888, Bd. 35, S. 743. *Berthelot, (1) Ann. de chim. et de phys., 1865, 4. sér., Bd. 6, S. 399. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1864, Bd. 59, S. 904. — (3) Ebenda, 1893, Bd. 117, S. 1039. *Bloch, (1) Berl. klin. Wochenschr., 1900, Bd. 31, S. 85. *Böhmer, C., (1) Deutsche landw. Presse, 1890, Bd. 17, Nr. 15. — (2) Ernten und Konservieren der landw. Futtermittel. Berlin 1900. *Boekhout, F. W. J., und Ott de Vries, J. J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 675. — (2) Ebenda, 1906, Bd. 15, S. 568. *Bouffard, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 121, S. 357. *Brefeld, O., (1) Landw. Jahrbücher, 1876, Bd. 5, S. 300. *Briem, (1) Deutsche landw. Presse, 1905, Bd. 32, S. 39. *Brocq-Rousseu, (1) Revue générale de Bot., 1904, Bd. 14, S. 219. *Brown, Adr., (1) J. federated Inst. Brewing, 1901; Z. f. d. ges. Brauwesen, 1901, Bd 24, S. 273. *Brugnatelli und Zenoni, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1876, Bd. 9, S. 1437. *Buchner, H., (1) Münchener med. Wochenschr., 1888, Bd. 35, S. 906. *Cohn, F., (1) Jahresber. d. Schles Ges. f. vaterl. Kultur, 1888, S. 150; ref. in Kochs Jahresb., 1890, Bd. 1, S. 40. — (2) Ueber Wärmeerzeugung durch Schimmelpilze und Bakterien. Vortrag, gehalten in d. Wandervers. d. Schles. Ges. f. vaterl. Kultur zu Brieg 1890. — (3) Ber d. Deutsch. Bot. Ges., 1893, Bd. 11, S. (66). *Dassonville und Brocq-Rousseu, (1) Revue générale de Bot., 1906, Bd 18, S. 164. *Delacroix, G., (1) Bulletin des sciences pharmacol., 1905, Bd. 11, S. 84. *Dietrich, (1) Cit. n. Böhmer (2). *Dubrunfaut, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1856, Bd. 42, S. 945. *Düggeli, M., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1904, Bd. 12, S. 602. — (2) Naturwiss. Zeitschr. f. Land- u. Forstwirtschaft, 1906, Bd. 4, S. 466. *Emmerling, O., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1897, Bd. 30, S. 1869. *Eriksson, J, (1) Untersuchungen a. d. bot. Inst. Tübingen, 1881, Bd. 1, S. 105. — (2) Om oer-råg. Kgl. Landsk. Akad. Handl. Stockholm, 1883. *Falk, R., (1) Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1904, Bd. 9, S. 1. *Falke, Fr., (1) Arb. d. Deutsch. Landw.-Ges., 1895, Heft 9. — (2) Ebenda, 1905, Heft 111. *Fischer, A., und Kuensberg, M., (1) Letters on brewing, 1906, Bd. 5, S. 268; ref. in Z. f. d. ges. Brauwesen, 1906, Bd. 29, S. 479. *Fitz, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1873, Bd. 6, S. 57. *Fruwirth, C., (1) Hopfenbau u. Hopfenbehandlung. Berlin 1888. *Generalkomitee d. bayr. landw. Vereins, (1) Ergebnisse landw. und agrikulturchem. Versuche, Heft 2. Erlangen 1859, S. 84; Heft 3, München 1861, S 72. *Gosio, (1) Rivista d'Igiene e Sanità pubblica, 1896, Bd. 7, S. 41. *Grassmann, P., (1) Zeitschr. d. Vereins f. Rübenzuckerind. d. Deutsch. Reiches, 1886, S. 102. *Greshoff, (1) Chem. Studien über d. Hopfen. Jena 1886. *Grießmayer, (1) Dinglers Journ., 1874, Bd. 212, S. 67. — (2) Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg., 1892. Nr. 1 u. 2. *Grimaldi, S., (1) Staz. sperim. agrar. ital., 1901, Bd. 34, S. 952. *Gundlach, (1) Deutsche landw. Presse, 1902, Bd. 29. S. 827. *Gutsverwaltung Rathshof, (1) Biedermanns Centralbl., 1879, Bd 6, S. 416. *Haepke, L., (1) Die Selbstentzündung von Schiffsladungen, Baumwolle u. anderen Faserstoffen, Steinkohlen, Heuhaufen, Tabak usw. sowie deren Verhütung. 2. Aufl., Bremen 1893. *Hári, P, (1) Pflügers Archiv, 1906, Bd. 115, S. 11. *Hartig, R., (1) Forstl.-naturwissenschaftl. Ztschr., 1897, Bd. 6, Heft 9. *Harz, C. O., (1) Landw. Samenkunde, Berlin 1885, Bd. 2, S. 892. *Haselhoff, E., und Mach, F., (1) Landw. Jahrbücher, 1906, Bd. 35, S. 445. *Heinrich, (1) Deutsche landw. Presse, 1896, Bd. 23, S. 121. *Herzfeld, W., (1) Centralbl. f. Zuckerindustrie, 1897, Bd. 5, S. 958. *Herzog, R. O., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1903, Bd. 37, S. 383. *Hiltner, L., (1) Landw. Versuchsstationen, 1887, Bd. 34, S. 391. *Hiltner, L., und Peters, L., (1) Arb. a. d. biol. Abt. f. Land- und Forstwirtsch. am Kais. Ges.-Amt, 1905, Bd. 4, S. 207. *Hoffmann, J. F., (1) W. f. Brauerei, 1897, Bd. 14, S. 437. — (2) Das Versuchskornhaus. Berlin 1904. — (3) W. f. Brauerei, 1905, Bd. 22, S. 80. — (4) Ebenda, S. 249. — (5) Ebenda, 1906, Bd. 23, S. 339. *Holdefleiss, F., (1) Deutsche landw. Presse, 1897, Nr. 47. — (2) Mitteilungen d. landw. Inst. d. Kgl. Universität Breslau, 1899, Bd. 1, Heft 1, S. 59.

*Issleib, M., (1) Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg., 1892, Nr. 41. *Jatschewski, A. A., (1) Russki Wratsch, 1905, Bd. 4, S. 403; ref. in Chem.-Ztg., Rep., 1905, S. 165. *Jensen, Hj., (1) Verslag omtrent den staat van S'Lands Plantentuin te Buitenzorg over het jaar 1904. Batavia 1905, S. 148 (auch in: Raciborski und Jensen, Onderzoekingen over Tabak in de Vorstenlanden. Batavia 1905). — (2) Onderzoekingen over Tabak der Vorstenlanden. Verslag over het jaar 1905. *Jetta, G., (1) Bolletino tecnico della coltivazione dei Tabacchi, 1903, Bd. 2, S. 299. — (2) Ebenda, 1904, Bd. 3, Nr. 5 6, S. 25. — (3) Ebenda, 1905, Bd. 4, Nr. 1/2, S. 42. *Jong, A. W. K. de, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1904, Bd. 37, S. 4398. *Jong, A. W. K. de, und Tromp de Haas, W. R., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1904, Bd. 37, S. 3298 u. 3301. *Jung, (1) Cit. n. Stockmeier (1). *Kellner, O., (1) Die Ernährung der landw. Nutztiere. Berlin 1905. *Kiessling, L., (1) Untersuchungen über d. Trocknung der Getreide mit bes. Berücksichtigung der Gerste. Dissert., München 1906. *Kluczenko, B., (1) Ref. in Hyg. Rundsch., 1898, Bd. 8, S. 1210. *König, J., Spieckermann, A., und Tillmans, J., (1) Z. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel, 1902, Bd 5, S. 737. *Kolkwitz, R., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1901, Bd. 19, S. 285. — (2) Blätter f. Gersten-, Hopfen- u. Kartoffelbau, 1901, Bd. 3, S. 370. *Kosutány, Th. von, (1) J. f. Landwirtschaft, 1903, Bd. 51, S. 329. — (2) Ref. in Chem.-Ztg., 1904, S. 362. *Kühn, G., (1) Landw. Versuchsstationen, 1894, Bd. 44, S. 1. *Lehmann, K., (1) Die Fabrikation des Surrogatkaffees. Wien, Pest, Leipzig 1893. *Lengyel, R. von, (1) Pflügers Archiv, 1906, Bd. 115, S. 7. *Leuscher, E., (1) Z. f. öffentl. Chemie, 1902, Bd. 8, S. 25. *Lewin, S., (1) Lehrb. d. Toxikologie. 2. Aufl., Berlin 1897. *Liebig, J., (1) Wagners Jahresber. über die Fortschritte d. chem. Technol., 1855, Bd 1, S. 205. — (2) Sitzungsber. d. K. Bayr. Akad. d. Wiss., 1869, Bd. 2, S. 427. *Lindner, P., (1) Mikroskop. Betriebskontrolle in d. Gärungsgewerben. Berlin 1895, S. 151. *Lombroso, (1) La pellagra. Roma 1878. *Lopriore, G., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1892, Bd. 10, S. 72. *Mach, E., und Portele, K., (1) Tiroler landw. Blätter, 1885, Bd. 4, S. 197. *Marienhagen, G., (1) Blätter f. Gerste-, Hopfen- u. Kartoffelbau, 1901, Bd. 3, S. 211. *Medem, (1) Jahrb. d. Deutsch. Landw.-Ges., 1904, Bd. 9, S. 40. — (2) Ueber Selbstentzündung und Brandstiftung. Heft 1—7. Greifswald 1895—1904. — (3) Deutsche landw. Presse, 1905, Bd. 32, Nr. 58, S. 497. *Meinecke, E. O., (1) Weinbau u. Weinhandel, 1897, S. 129. *Miehe, H., (1) Arbeiten d. Deutsch. Landw.-Ges., Heft 111. Berlin 1905. (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 16, S. 430. *Mohr, O., (1) Z. f. Spiritusindustrie, 1901, Bd. 24, S. 491. *Müntz, A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1881, Bd. 92, S. 97 u. 137. *Nägeli, C. von, (1) Theorie der Gärung. München 1879. *Nettelton, (1) Cit. n. Grießmayer (2). *Neumeister, (1) Z. f. Biologie, 1890, Bd. 26, S. 57. *Otto, R., (1) Landw. Versuchsstationen, 1902, Bd. 56, S. 427. *Pagel, A., (1) Z. d. landw. Centralvereins d. Prov. Sachsen, 1876, Bd. 33, S. 25; ref. in Biedermanns Centralbl., 1876, Bd. 10, S. 17. *Paltauf und Heider, (1) Med. Jahrb., 1888, N. F., Bd. 3, S. 383. *Peglion, V., (1) Atti R. Accad. dei Lincei, Roma, 1905, 5. ser., S. 45. *Peters, L., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1906, Bd. 24, S. 323. *Popoff, (1) Pflügers Archiv, 1875, Bd. 10, S. 113. *Prillieux, (1) Comptes rend. de l'Ac., 1891, Bd. 112, S. 894. — (2) Maladies des plantes agricoles. 1896, Bd. 2, S. 453. *Prillieux und Delacroix, (1) Bulletin de la Société Mycologique de France, 1891, Bd. 7, S. 116. — (2) Ebenda, 1892, Bd. 8, S. 22. *Ranke, (1) Liebigs Ann., 1873, Bd. 167, S. 361. *Rechenberg, C. von, (1) J. f. prakt. Chem., 1880, Bd. 22, S. 1. *Rodewald, (1) Jahrb. wiss. Bot., 1887, Bd. 18, S. 342. (2) Ebenda, 1888, Bd. 19, S. 291. *Rossi, G., (1) Bolletino tecnico della Coltivazione dei Tabacchi, 1905, Bd. 4, S. 242. — (2) Ebenda, S. 317. *Rubner, M., (1) Hyg. Rundsch., 1903, Bd. 13, S. 857. (2) Arch. f. Hyg., 1903, Bd. 48, S. 260. — (3) Ebenda, 1904, Bd. 49, S. 355. (4) Ebenda, 1906, Bd. 57, S. 193. — (5) Ebenda, S. 248. *Salecker, P., und Stutzer, A., (1) J. f. Landwirtschaft, 1906, Bd. 54, S. 273. *Schindler, J., (1) Z. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich, 1906, Bd. 9, S. 643. *Schulze, J. H., (1) W. f. Brauerei, 1904, Bd. 21, S. 27. *Sorokin, N., (1) Ref. in Z. f. Pflanzenkrankheiten, 1891, Bd. 1, S. 236. *Steinitz, R., (1) Ein Beitrag zur Kenntnis der Mehlbakterien. Dissert., Würzburg 1894. *Stockmeier, H., (1) Allg. Brauer- und Hopfen-Ztg., 1889, Bd. 29, Nr. 164. *Tacke, Br., (1) Mitteilungen des Vereins zur Förderung d. Moorkultur, 1901, S. 121; ref. in Biedermanns Centralbl., 1902, Bd. 31, S. 591. *Tangl, F., (1) Pflügers Archiv, 1903, Bd. 98, S. 475. — (2) Ebenda, 1906, Bd. 115, S. 1. *Tiraboschi, C., (1) Ann. di Bot., 1905, Bd. 2, S. 137. *Tirelli, V., (1) Archives ital. de Biologie, 1896, Bd. 25, S. 45. *Tolomei, G., (1) Atti R. Accad. dei Lincei, Roma, 1896, 5. ser., Bd. 5, S. 122. *Tschirch, Al., (1) Indische Heil- und Nutzpflanzen. Leipzig 1892. *Ulitzsch, P., (1) Landw. Versuchsstationen, 1899, Bd. 42, S. 215. *Urlandt, Edw., (1) Gartenflora, 1887, S. 421. *van der Jagt, H. A. C., (1) Mededeelingen van het proefstation voor suikerriet in West-Java „Kagok" te Pekalongan, Nr. 66; ref. in Chem. Centralbl., 1903, Bd. II, S. 1141. *Volhard, J., (1) Landw. Versuchsstationen, 1903, Bd. 58, S. 433. *Warburg, O., (1) Die Muskatnuß. Leipzig 1897. *Weber, C. O.,

(1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1903, Bd. 36, S. 3108, und Gummi-Ztg., 1904, Bd. 19, S. 165. ***Wehmer,** C., (1) Chem.-Ztg., 1898, Bd. 22, S. 1079. ***Weiske,** H., (1) Beiträge z. Frage über Weidewirtschaft und Stallfütterung. Breslau 1871. — (2) J. f. Landwirtschaft, 1877, Bd. 25, S. 170. ***Widmann,** J., (1) Milchztg., 1888, Bd. 17, S. 744. ***Wohltmann,** (1) Z. f. Versicherungswesen, 1894, Nr. 36. ***Wolff,** B., (1) Beiträge zur Kenntnis der Organismen des Schrotmehls und der Schrotmehlgärung. Dissert., Würzburg 1894. ***Woronin,** M., (1) Bot. Ztg., 1891, Bd. 49, S. 84. ***Zimmermann,** A., (1) Der Pflanzer, 1905, S. 305.

(*Manuskript-Einlauf: 20. Dez. 1906.*)

25. Kapitel.

Photogene Bakterien.

Von Dr. H. Molisch,
Professor an der deutschen Universität zu Prag.

§ 138. Geschichtliches und Systematisches.

Wer hätte nicht schon mit Staunen in dunkler Nacht das Leuchten faulen Holzes, das magische Licht des Fleisches toter Schlachttiere und toter Seetiere oder am Strande das Leuchten des Meeres bewundert? In der Tat gibt es wenige Erscheinungen in der Natur, die den Menschen in so hohem Maße anziehen wie die Lichtentwicklung der Tiere und Pflanzen. Obwohl man sicherlich diese Art des Leuchtens schon in uralter Zeit beobachtet hat, wurde doch erst im verflossenen Jahrhundert der Nachweis erbracht, daß das Leuchten des faulen Holzes und toter Tiere nicht ein rein chemischer Prozeß sondern ein biologischer ist, hervorgerufen durch Pilze.

Ganz allgemein wird E. Pflüger (1) als derjenige hingestellt, der im Jahre 1875 zuerst das Leuchten toter Fische auf die Tätigkeit lebender Bakterien zurückgeführt hat. Er untersuchte den vom Schellfisch leicht abwischbaren leuchtenden Schleim und fand darin neben Oeltröpfchen und Kriställchen ein Heer von Spaltpilzen. Er verteilte den leuchtenden Schleim in 3-proz. Seesalzlösung und trachtete dann, die Spaltpilze von den übrigen geformten Bestandteilen durch schwedisches Filtrierpapier zu trennen. Allein selbst wenn er die Filter doppelt nahm, erhielt er noch immer ein leuchtendes Filtrat. Es sah bei Tageslicht weißlich opalisierend aus und enthielt nur die Zellen der Schizomyceten. Erst beim Filtrieren durch ungeleimtes Druckpapier erhielt er ein vollkommen klares, nicht mehr leuchtendes Filtrat, während auf dem stark leuchtenden Filter alle Bakterien zurückgehalten worden waren. Ohne das Verdienst Pflüger's im geringsten schmälern zu wollen, muß doch hervorgehoben werden, daß die Priorität in unserer Frage nicht Pflüger sondern einem anderen, dem Wiener physiologischen Chemiker J. F. Heller (1) gebührt. Er hatte bereits im Jahre 1853 in einer an wichtigen und interessanten Beobachtungen reichen Abhandlung, die der Vergessenheit fast völlig anheim fiel, den Nachweis erbracht, daß das Leuchten toter Tiere auf das Leuchten lebender Bakterien zurückzuführen ist: „Die verwesenden und faulenden Tiere leuchten nicht, sondern es leuchtet ein nach dem Tode sich an den Tierstof

bildender Pilz somit wieder eine Pflanze,“ für welche er den Namen *Sarcina noctiluca* vorschlägt. Und schon im Jahre 1843 hatte er gelegentlich eines Vortrages über das Leuchten gefaulter Hölzer auf der Naturforscherversammlung in Graz den Satz ausgesprochen, „daß es ein Kryptogam, ein Pilz ist, welcher leuchtet, und nicht das Holz selbst oder Produkte seines Verwesungsprozesses.“

Später wurde unsere Kenntnis von den Leuchtbakterien durch Fr. Ludwig (2, 3, 4), Beijerinck (1—4), Dubois (1—5), B. Fischer (1, 2, 3), Katz (1) u. a. namentlich auf Grund von Reinkulturen erweitert. Reinkulturen, wie sie zuerst von Ludwig (4) im Jahre 1885 erzielt worden sind, gehören zu den schönsten botanischen Demonstrationsobjekten, die man sich denken kann. Eine Plattenkultur von *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch bietet mit den zahlreichen in blaugrünem Lichte erglänzenden Kolonien einen geradezu zauberhaften, am besten mit dem nächtlichen Sternenhimmel oder bei Dichtsaat mit der Milchstraße vergleichbaren Anblick. Gegenwärtig sind bereits an nahezu 30 Arten von Leuchtbakterien bekannt.

Im folgenden seien kurz unsere systematischen Kenntnisse über die Leuchtbakterien historisch skizziert. Ursprünglich neigte man zur Ansicht, daß das Leuchten von Schlachtfleisch und toten Tieren durch eine oder einige wenige Arten hervorgerufen wird. So bezeichnet, wie bereits bemerkt, Heller als Ursache des Leuchtens toter Tiere ganz allgemein die *Sarcina noctiluca*. Im Jahre 1878 beschrieb F. Cohn in einem Briefe an J. Penn den *Micrococcus phosphoreus* Cohn als Erreger des Lichtes auf gekochten Fischen und anderen Nahrungsmitteln. Etwa zur selben Zeit sah Nüesch (1) leuchtende Schweinskoteletten und bezeichnete als Urheber der Lichtentwicklung das *Bacterium lucens*. Einen damit vielleicht identischen, auf leuchtendem Kaninchenfleisch beobachteten Spaltpilz nannte Dubois (3) dann *Photobacterium sarcophilum*.

Unbekannt mit den Angaben von Nüesch und Cohn machte Ludwig (2) durch Uebertragung des leuchtenden Schleimes von Seefischen auf gesundes Fleisch von Schlachttieren auch dieses leuchtend, nannte den dabei beobachteten Spaltpilz *Micrococcus Pflügeri* und war damals der Meinung, daß sowohl das Leuchten der Seefische als auch das spontane Leuchten des Fleisches auf ein und denselben Spaltpilz zurückzuführen sei.

Allein schon B. Fischer (1, 2, 3) konnte zeigen, daß es im Meere eine ganze Reihe verschiedener Leuchtbakterien gibt. Er unterscheidet: 1. *Bacillus phosphorescens*, aus Westindien stammend, 2. *Bacterium phosphorescens* und 3. „Einheimischer Leuchtbazillus“, beide von den deutschen Gestaden, 4. *Photobacterium coronatum*, 5. *Ph. annulare*, 6. *Ph. glutinosum*, 7. *Ph. delgadense*, 8. *Ph. tuberosum*, 9. *Ph. degenerans*, 10. *Ph. caraibicum*, 11. *Ph. papillare*.

Beijerinck (1, 2, 3) machte im Jahre 1890 den Vorschlag, alle Leuchtbakterien unter dem Gattungsnamen *Photobacterium* zu vereinigen, und studierte vornehmlich *Photobacterium Pflügeri*, *Ph. phosphorescens*, *Ph. Fischeri*, *Ph. Fischeri fa. baltica*, *Ph. luminosum*, *Ph. indicum*.

Katz (1) beschrieb im Jahre 1891 von den australischen Küsten folgende sechs Arten: *Bacillus smaragdino-phosphorescens*, *B. argenteo-phosphorescens I—III*, *B. argenteo-phosphorescens liquefaciens*, *B. cyaneo-phosphorescens*.

Erwähnt seien ferner das von Eijkman auf Seefischen am Markte zu Batavia aufgefundene *Photobacterium javanense*, der von Dunbar ent-

deckte *Vibrio* DUNBAR der Autoren und der von GIARD aus Crustaceen gezüchtete *Bacillus phosphorescens Giardi* KRUSE.

Hierzu kommen die von MOLISCH (6) vor kurzem auf Fischen aus dem Hafen von Triest entdeckten Arten: *Pseudomonas lucifera*, *Microspira photogena*, *Ms. luminescens*, *Ms. gliscens.*

Endlich hat REINELT (1) gezeigt, daß die miteinander oft verwechselten oder für identisch gehaltenen drei Bakterienarten *Bacterium phosphoreum* (COHN) MOLISCH, *Bact. phosphorescens* FISCHER und *Bact. Pflügeri* (LUDWIG) REINELT drei verschiedene, wenn auch sehr nahe verwandte Arten darstellen, und daß die von FOÀ und CHIAPELLA (1) aufgefundene und *Photobacterium italicum* benannte Leuchtbakterienart *Pseudomonas italica* (FOÀ et CHIAPELLA) REINELT zu heißen hat.

Die **Systematik** der Leuchtbakterien läßt noch viel zu wünschen übrig; so ist die Nomenklatur vielfach eine unwissenschaftliche und die Beschreibung der einzelnen Arten in so hohem Grade unvollkommen, daß es vielfach unmöglich ist, manche von den bereits beschriebenen Leuchtbakterien wiederzuerkennen. So kann es, wie bereits MIGULA (1) auf S. 148—149 des vorliegenden Bandes mit Recht hervorgehoben hat, nicht gebilligt werden, alle Leuchtbakterien auf den Vorschlag BEIJERINCK's hin unter einem Genus *Photobacterium* zu vereinigen. Man könnte dann aus demselben Grunde alle thermogenen Bakterien oder alle insektenfressenden Pflanzen mit einem Gattungsnamen bezeichnen. Nichtsdestoweniger kann der Terminus Photobakterium als physiologischer Begriff mit Vorteil gebraucht werden, wenn man die hervorragende Eigentümlichkeit, Licht zu entwickeln, in den Vordergrund stellen will.

Gewisse Arten, wie *Bacterium lucens* NÜESCH, *Photobacterium sarcophilum* DUBOIS u. a., sind so flüchtig beschrieben, daß es nie gelingen wird, sie zu erkennen; es wäre daher besser, diese Namen überhaupt aufzulassen. MIGULA (1) hat die meisten Leuchtbakterien zum ersten Male in den verschiedenen Abteilungen des Bakteriensystems auf Grund morphologischer Merkmale untergebracht und nach den Regeln der Nomenklatur benannt. Ihm darin folgend, will ich hier der Uebersichtlichkeit halber die bis jetzt bekannten und verhältnismäßig gut beschriebenen Photobakterien aufzählen unter Beifügung ihrer wichtigeren **Synonyma:**

1. *Micrococcus Pflügeri* LUDWIG = *Photobacterium Pflügeri* BEIJERINCK = *Bacterium Pflügeri* (LUDWIG) REINELT,
2. *Bacterium phosphoreum* (COHN) MOLISCH = *Micrococcus phosphoreus* COHN,
3. „ *phosphorescens* FISCHER, nach MIGULA identisch mit *Photobacterium phosphorescens* BEIJERINCK,
4. „ *Giardi* (KRUSE) MIGULA = *Bacillus phosphorescens Giardi* KRUSE,
5. „ *argenteo-phosphorescens* (KATZ) MIG. = *Bacillus argenteo-phosphorescens II* KATZ,
6. „ *smaragdino-phosphorescens* (KATZ) MIG. = *Bacillus smaragdino-phosphorescens* KATZ,
7. *Bacillus phosphoreus* (KATZ) MIG. = *Bacillus argenteo-phosphorescens liquefaciens* KATZ,
8. „ *argenteo-phosphorescens* KATZ = *Bacillus argenteo-phosphorescens I* KATZ,
9. „ *phosphoricus* (KATZ) MIG. = *Bacillus argenteo-phosphorescens III* KATZ,
10. „ *cyaneo-phosphorescens* KATZ,
11. „ *Fischeri* (BEIJERINCK) MIG = *Photobacterium Fischeri* BEIJERINCK. Sehr nah verwandt damit ist „Einheimischer Leuchtbazillus FISCHER“ = *Photobacterium Fischeri forma baltica* BEIJERINCK,
12. „ *phosphorescens* FISCHER = *Photobacterium indicum* BEIJERINCK,
13. *Pseudomonas lucifera* MOLISCH = *Bacillus lucifer* MOLISCH,
14. „ *italica* (FOÀ et CHIAPELLA) REINELT = *Photobacterium italicum* FOÀ et CHIAPELLA,

15. *Pseudomonas javanica* (EIJKMAN) MIG. *Photobacterium javanense* EIJKMAN,
16. *Microspira photogena* MOLISCH — *Bacillus photogenus* MOLISCH.
17. „ *luminescens* MOLISCH = *Bacillus luminescens* MOLISCH,
18. „ *gliscens* MOLISCH = *Bacillus gliscens* MOLISCH,
19. „ *Dunbari* MIG. = *Vibrio* DUNBAR der Autoren,
20. „ *coronata* (FISCHER) MIG. = *Photobacterium coronatum* FISCHER.
21. „ *annularis* (FISCHER) MIG. „ *annulare* „
22. „ *glutinosa* (FISCHER) MIG. „ *glutinosum* „
23. „ *delgadensis* (FISCHER) MIG. „ *delgadense* „
24. „ *tuberosa* (FISCHER) MIG. = „ *tuberosum* „
25. „ *degenerans* (FISCHER) MIG. = „ *degenerans* „
26. „ *luminosa* (FISCHER) MIG. = „ *luminosum* „
27. „ *caraibica* (FISCHER) MIG. = „ *caraibicum* „
28. „ *papillaris* (FISCHER) MIG. = „ *papillare* „

Gewiß werden bei weiterer Durchforschung der Meere noch mehr Arten von Leuchtbakterien aufgefunden werden, und ebenso sicher darf man annehmen, daß manche von den angeführten Arten sich später als identisch erweisen werden.

5 Zu den häufigsten, auf dem Festlande überaus leicht beschaffbaren Leuchtbakterien gehört das auf dem Schlachtviehfleisch so häufig vorkommende *Bacterium phosphoreum* (COHN) MOLISCH. Da dieser Spaltpilz sich überdies durch sein brillantes Leuchten auszeichnet und bei physiologischen Versuchen so vortreffliche Dienste leistet, so sei er hier ge-10 nauer beschrieben. Man vergleiche darüber die Arbeiten von MOLISCH (2, 5, 6). Gestalt und Größe variieren bedeutend nach der Zusammensetzung des Substrates und dem Alter der Kultur. Die Zellen sind bald kugelig, fast kokkenartig, bald oval, bald stäbchenartig mit abgerundeten Enden. Die kugeligen messen durchschnittlich 1—2 μ, die 15 Stäbchen 2—7 μ und darüber. Eigenbewegung fehlt. Färbbarkeit: Färbt sich leicht mit Anilinfarbstoffen, jedoch nicht nach GRAM. Sauerstoffbedürfnis: Aerob: leuchtet nur bei Gegenwart von freiem Sauerstoff. Temperaturbedürfnis: Das Minimum liegt noch etwas unter Null, das Optimum bei etwa 16—18° C und das Maximum 20 bei etwa 28°. Ist demnach auf relativ niedere Temperaturen gestimmt. Einwirkung einer Temperatur von 30° C durch 48 Stunden auf Gelatinekulturen tötet die Bakterie. Sie gehört zu den am intensivsten leuchtenden Bakterien. Sie leuchtet im bläulichgrünen Lichte; besonders junge, frisch vom Fleische abgezüchtete Kulturen leuchten so intensiv, 25 daß man das Licht schon bei Tage im Schatten eines Zimmers wahrnimmt. Ich beobachtete Leuchten zwischen —5° C und 28° C. Bei niederer Temperatur (5 bis 20° C) ist die Lichtentwicklung am stärksten, besonders auf Gelatine, Agar, Kartoffelscheiben und in Milch, weniger gut in Bouillon, Kartoffelwasser und Harn. Kochsalz (oder entsprechende 30 Mengen andere Salze, wie Kalisalpeter, Chlorkalium etc.) und alkalische Reaktion sind für das Zustandekommen ausgiebiger Vermehrung und für das Leuchten gewöhnlich notwendig, doch leuchtet die Bakterie auch in nicht-alkalischer Milch und auf ungesalzenen Kartoffelscheiben, wahrscheinlich, weil diese selbst reichlich Chloride enthalten. Gelatine-35 platte: Zehntägige Kultur bei 16° C. a) Natürliche Größe. Die aufliegenden Kolonien sind gelblichweiß, feuchtglänzend, rund, am Rande unregelmäßig schwach gewellt, etwa 3 mm im Durchmesser. Die tiefliegenden Kolonien sind viel kleiner, mehr gelblich, kugelig oder bikonvex. b) Bei 50-facher Vergrößerung. Aufliegende Kolonien im durchfallenden 40 Lichte bräunlich, oft mit farblosem Rande und radiärstrahliger Struktur. Die tiefliegenden Kolonien sind im durchfallenden Lichte braun, am Rande

von radiär strahliger Struktur. Rand ganz. *Gelatinestich*: Nach einem Monat bei 12° C im Stichkanal sehr spärliches Wachstum, derselbe schwach gekörnt, weißlich. Auflage scheibenartig, ganzrandig oder mit schwach welligem Rande, zunächst feuchtglänzend, nach einem Monat matt. *Gelatinestrich*: Nach einem Monat bei 12° C. Die Kultur bleibt auf die nächste Umgebung des Striches beschränkt, ist gelblichweiß, feuchtglänzend, der Rand wellig gebuchtet. *Bouillonkultur*: Deutlich getrübt, Bodensatz mäßig, weißlich, Kohärenz gering, beim Schütteln sich wolkig verteilend; keine Hautbildung oder Ansatz zu einem schwachen Häutchen, das beim Schütteln in zu Boden sinkende Flöckchen zerfällt. *Milchkultur*: Das Leuchten dauert lange Zeit (monatelang). Die Milch erscheint im Finstern weiß, bei starker Entwicklung der Bakterie bläulichgrün. *Chemische Leistungen*: Verflüssigt Gelatine nicht. Diese und besonders Kartoffelkulturen riechen stark nach Trimethylamin. Die Bakterie entwickelt schon nach 24 Stunden in Salzpeptongelatine mit 1 Proz. Traubenzucker oder Rohrzucker reichlich Gas, aus ersterem rascher als aus letzterem. Das Gas besteht nur zum Teile aus Kohlensäure. *Sporenbildung* wurde nicht beobachtet. *Lebensdauer*: Die auf dem Deckglas eingetrockneten und im Finstern lufttrocken aufbewahrten Bakterien waren nach 8 Tagen und längerer Zeit noch zur Entwicklung zu bringen, aber nicht mehr nach 2 Monaten.

§ 139. Das Leuchten des Fleisches toter Schlachttiere, toter Seetiere, der Hühnereier und Kartoffeln.

Bis vor kurzem hat man das spontane *Leuchten des Schlachtviehfleisches* im großen und ganzen selten beobachtet, es wurde stets als eine Aufsehen erregende Merkwürdigkeit hingestellt, die nur unter bestimmten, unbekannten Umständen auftreten soll. Allein meine Untersuchungen (2) haben gelehrt, daß das Leuchten des Fleisches sehr häufig vorkommt, und daß es fast mit der Sicherheit eines physikalischen Experimentes in folgender Weise hervorgerufen werden kann: Das zu prüfende, kinderfaustgroße, vom Metzger für den Küchengebrauch eben abgelieferte Fleischstück wird in eine kleine Kristallisierschale gebracht und mit einer 3-proz. Kochsalzlösung soweit übergossen, daß es mindestens zur Hälfte noch über die Flüssigkeit in die Luft herausragt. Bedeckt man behufs Schaffung eines feuchten Raumes das Ganze mit einer Glocke und läßt man das Fleisch im ungeheizten Zimmer, am besten bei einer Temperatur von 9—12° C stehen, so tritt gewöhnlich nach 1—3 Tagen das Leuchten auf. Von den gesamten, in der angegebenen Weise geprüften Fleischproben leuchteten nicht weniger als 87 Proz., und zwar von den Rindfleischproben 89 Proz. und von den Pferdefleischproben 65,5 Proz. Wenn das Fleisch zu leuchten beginnt, weist es gewöhnlich noch keinen oder nur einen ganz schwachen übeln Geruch auf, das Auftreten von Licht stellt gewöhnlich nur die erste Stufe der Fäulnis dar. Und wenn die stinkende Fäulnis um sich greift, erlischt allmählich das Leuchten, da die Leuchtbakterien nunmehr von anderen, nichtleuchtenden Spaltpilzen überwuchert werden. Das weißlich erscheinende Licht verteilt sich seltener gleichmäßig auf die Fleischoberfläche, sondern tritt gewöhnlich inselartig auf, so daß das Fleisch wie mit glänzenden Sternen übersäet erscheint. Tadellos hergestellte Reinkulturen führten sowohl bei Rind- und Pferdefleisch als auch bei Schweine- und Gänse-

fleisch immer auf das *Bact. phosphoreum* (COHN) MOLISCH als Lichterreger. Es ist ein viel häufigerer Pilz als man bisher angenommen hat, findet sich auf dem Fleisch der Eiskeller, der Schlachthäuser, der Markthallen und auch in Küchen, wo Fleisch von Schlachttieren und Geflügel regel-
5 mäßig eingeführt wird; denn nur so ist es zu erklären, daß sich auf der großen Mehrzahl ganz kleiner Fleischstückproben das Leuchten einstellt und das genannte Bakterium hier als Erreger des Lichtes vorgefunden wird.

Das Leuchten toter Seetiere ist eine namentlich den Fischern
10 an der See seit langer Zeit bekannte Tatsache. Schon bei PL. HEINRICH (1) findet sich der Satz: „Alle Seefische leuchten nach dem Tode." Von der Häufigkeit der Erscheinung kann man sich gelegentlich eines Aufenthaltes an der See leicht überzeugen. Nach meinen Erfahrungen (5) wird wenigstens während der warmen Jahreszeit ein
15 nicht geringer Teil der Fische in Triest sogar im leuchtenden Zustande verkauft, ohne daß der Käufer eine Ahnung davon hat. Derartige Fische sind sozusagen noch frisch, haben keinen unangenehmen Geruch und befinden sich noch nicht im Stadium stinkender Fäulnis. Sowie das Leuchten des Fleisches toter Schlachttiere sich ge-
20 wöhnlich vor dieser einstellt und das Fleisch, vorausgesetzt, daß das Leuchten nicht schon zu lange angedauert hat, dabei noch genußfähig bleibt, verhalten sich auch leuchtende tote Fische. Es ist daher vom sanitätspolizeilichen Standpunkte hervorzuheben, daß leuchtendes Fleisch oder leuchtende Fische noch ganz gut genießbar sein können, weil die
25 Lichtentwicklung gewöhnlich der schädlichen Fäulnis vorangeht und weil die vorhandenen photogenen Bakterien dem Menschen nicht schaden, das *Bact. phosphoreum* (COHN) MOLISCH schon deshalb nicht, weil es auf relativ niedere Temperaturen gestimmt ist und schon bei 30° abstirbt. Und die Photobakterien toter Fische deshalb nicht, weil sie bei der
30 Bereitung der Fische gewöhnlich abgetötet werden und auch im lebenden Zustande keinerlei Beschwerden hervorrufen. Wenigstens konnte TOLLHAUSEN (1) an sich selbst einen übeln Einfluß auf sein körperliches Wohlbefinden nicht konstatieren, als er an drei aufeinander folgenden Tagen kleine Mengen (bis zu 25 ccm) leuchtender Salzbouillon und ebenso eine
35 helleuchtende Gelatinekultur von *Bact. phosphorescens* FISCHER verzehrte.

Nicht bloß marine Fische sondern auch andere tote marine Tiere leuchten, so z. B. Austern, Steckmuscheln, Miesmuscheln, Hummern, Flohkrebse u. a. Hingegen leuchten tote Süßwasserfische spontan nicht sondern nur dann, wenn sie mit Leuchtbakterien von Meerestieren infiziert
40 worden sind.

Das Leuchten von sogen. Soleiern und Kartoffeln wurde in jüngster Zeit von MOLISCH (7) aufgeklärt. Unter Soleiern versteht man in Deutschland gekochte Hühnereier, die der längeren Haltbarkeit halber in Salzwasser aufbewahrt werden. Solche Eier leuchten häufig,
45 wenn sie in den Aufbewahrungsräumen (Küche, Speiseraum) mit dem Leuchtbakterium des Schlachtviehfleisches *Bact. phosphoreum* (COHN) MOLISCH infiziert werden. Das Leuchten gekochter Kartoffeln beruht gleichfalls auf einer Infektion mit Leuchtbakterien.

Anhangsweise seien nun noch einige Tatsachen mitgeteilt, denen
50 zufolge das Leuchten noch lebender Tiere durch Infektion mit Photobakterien veranlaßt sein kann. So fand GIARD (1 u. 2), daß der Flohkrebs *Talitrus* mitunter schon im lebenden Zustande leuchtet. Es handelt sich hier nicht um eine physiologische Besonderheit, sondern

das für gewöhnlich nicht leuchtende Tier infiziert sich, während es unter den Auswürfen des Meeres haust, durch kleine Wunden mit Leuchtbakterien, die sich im Blute vermehren und das Tier mit blaugrünem Lichte erfüllen. Das Tier wird dabei matt, erkrankt und leuchtet nach eingetretenem Tode noch einige Stunden weiter. Dem genannten französischen Forscher gelang es auch, durch künstliche Infektion des *Talitrus* mit den Photobakterien eines toten Flunders diese merkwürdige Art der „Lichtseuche“ hervorzurufen. Von Interesse sind auch Versuche TARCHANOFF's (1) über durch Impfung mit Photobakterien leuchtend gemachte Frösche. Um solche zu erhalten, spritzte er dem Frosche in den Lymphsack des Rückens einige Kubikcentimeter leuchtender Bouillon ein. Die Bakterien gelangen von hier aus allmählich ins Blut und machen nach und nach den ganzen Körper, insbesondere die Zunge und andere transparente Teile, leuchtend. Nach 3—4 Tagen erlischt das Licht der Frösche, weil die Bakterien zugrunde gehen, und die Frösche werden wieder normal. Da die Bakterien, mit denen TARCHANOFF experimentierte, dem baltischen Meere angehörten, mithin niederen Temperaturen angepaßt waren, so ist es begreiflich, daß solche Versuche mit warmblütigen Tieren nicht gelangen.

Ob die von SCHMIDT (1), HENNEBERG (1) u. A. beobachteten leuchtenden Zuckmücken und Pilzmücken spontan leuchteten oder infolge einer Infektion mit Leuchtbakterien, bleibt zu untersuchen.

§ 140. Ernährung, Wachstum, Leuchten und Temperatur.

Fast sämtliche Photobakterien, auch das auf dem Festlande eingebürgerte, das Schlachtviehfleisch bewohnende *Bact. phosphoreum* (COHN) MOLISCH, erwiesen sich als h a l o p h i l (vergl. S. 337). Nur einige wenige, z. B. die von KUTSCHER (1 u. 2) im Hamburger Leitungswasser aufgefundenen und direkt aus der Elbe und aus dem Kote verschiedener Personen gezüchteten Leuchtvibrionen, bedürfen des Kochsalzes nicht. Man fügt daher dem Nährmedium gewöhnlich einen dem Meerwasser entsprechenden Zusatz von K o c h s a l z, also etwa 3—3,5 Proz. hinzu. BEIJERINCK (3) dem wir ebenso eingehende als interessante Untersuchungen über den Nahrungsbedarf der photogenen Bakterien verdanken, verwendet als Nährboden eine Abkochung von Fischen in Meerwasser, der 8 Proz. Gelatine, 0,5 Proz. Asparagin, 1 Proz. Glycerin und etwa 1 Proz. Pepton zugesetzt werden. In Ermangelung von Meerwasser und von Fischen bereite ich mit Vorteil die Nährgelatine in folgender Weise: Auf 125 g Pferde- oder Rindfleisch wird ein Liter dest. Wasser geschüttet und einen Tag bei Kellertemperatur (etwa 10°) stehen gelassen. Der abgepreßte Fleischsaft wird mit 3 Proz. Kochsalz versehen, aufgekocht, und das ausgefällte Fleischeiweiß abfiltriert. Zu dem Filtrate setzt man nun 10 g Pepton und 100 g Gelatine und neutralisiert mit etwas Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion. Ein Zusatz von 0,5 Proz. Glycerin fördert das Leuchten.

Die große **Bedeutung des Kochsalzes** für das Gedeihen von Leuchtbakterien wurde vielfach betont. So sagt KATZ (1): „Die Anwesenheit von Salzen, wie Chlornatrium, Dinatriumphosphat u. a., ist für den Grad der Kulturfähigkeit der Leuchtbakterien — welche bis jetzt bloß im Meerwasser, direkt oder indirekt, gefunden sind — an und für sich von hoher Bedeutung; beispielsweise wachsen sie in gewöhnlichem neutrali-

sierten oder schwach alkalischen Fleischinfus nicht: ein Zusatz von 0,5 Proz. Kochsalz genügte noch nicht für alle Fälle; nach Zusatz größerer Dosen trat Vermehrung ein." KATZ setzte seinen Kulturen gewöhnlich 2,7 Proz. Kochsalz zu. Auch B. FISCHER fand, daß die Salze für das 5 Leuchten unerläßlich sind, und daß häufig eine Mischung von Natrium- und Magnesiumsalzen von besonderem Vorteil ist. Aus der Arbeit von MAC KENNEY (1) geht hervor, daß der *Bacillus phosphorescens* in einem Nährmedium, welches dest. Wasser und 1 Proz. Pepton enthielt, und dem 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 5, 10 und 15 Proz. Kochsalz zugesetzt wurden, überall 10 Entwicklung zeigte, mit Ausnahme des Gefäßes mit 0,25 Proz. In den Kulturen mit 0,5, 10 und 15 Proz. war das Wachstum sehr schwach und hörte in den beiden zuletzt genannten Kulturen bald ganz auf. Ein bis drei Prozent Kochsalz erwiesen sich als sehr günstig, sowohl für das Wachstum als auch für das Leuchten. Hingegen zeigte sich in 15 den anderen Kulturen kein Licht. In der Literatur wird das Kochsalz häufig als unerläßlich für die Leuchtbakterien hingestellt, obwohl schon BEIJERINCK (1) und DUBOIS darauf aufmerksam machten, daß das Nährsubstrat anstatt des Kochsalzes isotonische Mengen anderer Mineralsalze enthalten könne. Spezielle Versuche darüber von MOLISCH (5) haben für 20 *Bact. phosphoreum* (COHN) MOLISCH unter bestimmten Bedingungen ergeben: 1. Nicht bloß das Kochsalz, sondern alle geprüften Chloride des Natriums, Kaliums, Magnesiums, Calciums ermöglichen Vermehrung und Lichtentwicklung; Chlorkalium ruft sogar noch stärkeres Leuchten hervor als Chlornatrium. 2. Abgesehen von den Chloriden können auch 25 andere Salze Wachstum und Leuchten veranlassen, so Kaliumnitrat, Jodkalium und Kaliumsulfat; der Kalisalpeter bedingt sogar stärkeres Licht als das Kochsalz. 3. In der Regel geht kräftige Vermehrung mit starker Lichtentwicklung Hand in Hand, das Magnesiumsulfat bildet jedoch eine Ausnahme, denn dieses bedingt ein sehr starkes Wachstum, 30 aber nur ein sehr schwaches Leuchten. Der Reihenfolge nach leuchten am stärksten die Kulturen mit Kalisalpeter und Chlorkalium, sodann kommen die mit Chlornatrium, Jodkalium und Magnesiumchlorid und endlich die mit Kaliumsulfat. Kein oder fast kein Leuchten rufen Magnesiumsulfat und Dikaliumphosphat hervor. Mangansulfat hemmt jede 35 Entwicklung. Auch für *Microspira photogena* MOLISCH hat sich Aehnliches ergeben. Das Natriumchlorid kann auch hier durch andere Chloride aber auch durch Nichtchloride (Kaliumjodid, Kaliumsulfat und Magnesiumsulfat) vertreten werden, wenn auch nicht immer in demselben Grade wie bei *Bact. phosphoreum*. Während z. B. bei diesem das Kaliumnitrat die 40 stärkste Lichtentwicklung bedingte, war das bei *Microspira photogena* nicht der Fall; hier wirkte Natriumchlorid am besten. Die photogenen Bakterien haben sich also an relativ salzreiche Medien angepaßt, und die Salze, allen voran das Kochsalz, machen das Wasser isosmotisch mit dem Zellinhalt und ermöglichen so das Gedeihen. Dies ist der Grund, 45 warum die Photobakterien des Meeres einen dem Meerwasser entsprechenden Kochsalzzusatz erheischen und warum dieser durch andere Salze von ganz verschiedener Zusammensetzung vertreten werden kann, wenn sie nur in solchen Mengen geboten werden, daß dadurch das Nährsubstrat mit dem Zellinhalt isotonisch wird. Man vergleiche hierzu auch 50 S. 337 des vorliegenden Bandes.

Das Prinzip der BEIJERINCK'schen Untersuchungen über die Beziehungen zwischen **Nahrung, Luminescenz** und **Wachstum** beruht im wesentlichen auf dem von dem genannten Autor als **Auxanographie** be-

zeichneten Verfahren (s. S. 565). Bringt man auf eine Leuchtbakterienplatte, die die Nährstoffe in ungenügender Menge enthält und die daher nur sehr schwach leuchtet, Substanzen, deren Einfluß auf das Wachstum und das Leuchten geprüft werden soll, so lösen sie sich und diffundieren in einem Kreisfeld nach allen Richtungen. Ist die zugefügte Substanz ein Lichtnährmittel, so leuchtet manchmal schon nach wenigen Sekunden das Diffusionsfeld auf. Ist das Nährmittel geeignet, Wachstum und Bakterienvermehrung zu unterhalten, so ruft es nicht bloß ein Lichtfeld sondern auch ein Wachstumsfeld, ein Auxanogramm, hervor, charakterisiert durch unzählige Bakterienkolonien, die sich im Diffusionsfeld viel stärker entwickeln als außerhalb desselben. Beijerinck nennt einen solchen Nährstoff einen „plastischen". Ein Lichtstoff ist stets ein plastischer, aber nicht umgekehrt. Daraus folgt nach Beijerinck die wichtige Tatsache, daß die Lichtentwicklung bei den Leuchtbakterien weder an das Wachstnm noch an die Atmung notwendig gebunden ist. Bakterienfelder reagieren mit erstaunlicher Feinheit. Gewisse Substanzen, allen voran Lävulose und Glucose, machen das Terrain schon nach wenigen Sekunden aufleuchten. Die Photobakterien reagieren hier auf so minimale Mengen von Stoffen, daß Beijerinck in dieser Reaktion ein Analogon der Bunsen'schen Flammenreaktion erblickt, ja im gewissen Sinne ist die Bakterienreaktion noch vorteilhafter, weil sie viel länger dauert. Die von Beijerinck auf ihre Ernährung geprüften Photobakterien zerfallen bezüglich ihrer Kohlenstoffnahrung in zwei Gruppen. Die eine erfordert zum Wachstum und zur Lichtentwicklung die gleichzeitige Anwesenheit eines peptonartigen Körpers, der den notwendigen Stickstoff zu liefern hat, und noch einer kohlenstoffhältigen Verbindung, die nicht stickstofffrei zu sein braucht. Die zweite Gruppe braucht nur Pepton oder einen eiweißartigen Körper, den sie mittelst proteolytischer Enzyme zu peptonisieren vermag. Beijerinck nennt sie daher Peptonbakterien im Gegensatz zur vorhergehenden Gruppe, die er als Peptonkohlenstoffbakterien bezeichnet (s. S. 401 u. 413). Zur ersten Gruppe gehören z. B. die *Microspira luminosa* (Fischer) Mig. und *Bacillus phosphorescens* Fischer, zur zweiten *Photobacterium phosphorescens* Beijerinck und *Ph. Pflügeri* Beijerinck. Geringe Mengen von Zuckerarten fördern die Leuchtkraft, während größere Mengen sie schädigen, weil die Bakterien daraus Säuren bilden und das Substrat ansäuern, was die Photobakterien nicht gut vertragen. Denn sie alle lieben einen neutralen oder einen schwach alkalischen Nährboden. Die einzelnen Arten unterscheiden sich wesentlich in ihrem Verhalten zur Qualität und Quantität der Disaccharide. Die eine (*Photobacterium phosphorescens* Beijer.) nimmt Maltose auf, die andere (*Photob. Pflügeri* Beijer.) lehnt sie ab. Eine dritte (*Photob. Fischeri* Beijer.) wird schon durch 0,5 Proz. Rohrzucker im Wachstum und in der Lichtentwicklung geschädigt, während eine vierte (*Photob. Fischeri f. baltica* Beijer.) davon noch 3—5 Proz. ohne Schaden verträgt.

Bezüglich der **Temperatur** in ihrer Beziehung zu den Leuchtbakterien ist zunächst zu bemerken, daß tropische Photobakterien höhere Temperaturen vorziehen, daß hingegen die der heimischen Flora gewöhnlich auf relativ niedere Temperaturen gestimmt sind und bei diesen intensiver und andauernder leuchten. In der Nähe der oberen Temperaturgrenze des Wachstums wird das Leuchtvermögen im allgemeinen geschädigt, während niedere Temperaturen von unseren Leuchtbakterien ganz gut vertragen werden. Die von Eijkman (1) in Batavia entdeckte

tropische *Pseudomonas javanica* (EIJKM.) MIG. liebt hohe Temperaturen. Bei 10° C wachsen die Kulturen überhaupt nicht mehr, am besten gedeihen sie bei 28—38° C, Lichtentwicklung findet zwischen — 20° und + 45° C statt, unter 10° und über 40° leuchten sie schwach, am stärksten
5 zwischen 25°—33° C. Das Optimum für Wachstum und Leuchten liegt bei *Photobacterium indicum* BEIJER. bei 30—32°, bei *Photob. luminosum* BEIJER. bei 25—28° C. LEHMANN (1) beobachtete noch bei 0,1° C durch mehrere Tage ein schwaches Leuchten. FORSTER (1) zeigte, daß eine auf Seefischen (Butten) vorkommende Leuchtbakterie bei 0°—20° gleich
10 gut leuchtet, von 32° C an aufhört, Licht zu geben, und noch im Eisschranke bei 0° gut wachsen kann (s. S. 448). Ebenso hat bereits HELLER (1) früher angegeben, daß seine *Sarcina noctiluca*, die ja nichts anderes als ein Sammelname für verschiedene Leuchtbakterien war, selbst im Eise, und zwar noch bei recht niederen Temperaturen (— 14° R).
15 weiter leuchtete. Mit Hilfe des *Bact. phosphoreum* (COHN) MOLISCH und anderer Bakterien kann man sich in der Tat leuchtendes Eis verschaffen. Bezüglich der Temperaturansprüche der zuletzt genannten Bakterienart vergleiche man S. 626. Nach den Versuchen MACFADYEN's (2 u. 3) und ROWLAND's (1) stellen photogene Bakterien, wenn sie der
20 Temperatur flüssiger Luft (— 172° bis — 190°) entweder 20 Stunden oder sogar eine Woche ausgesetzt werden, das Leuchten zwar ein, nach sorgfältigem Auftauen aber entwickeln sie sofort wieder ungeschwächt Licht. Werden sie hingegen bei so niederer Temperatur durch Zerreiben zerstört, so erlischt die Leuchtfähigkeit.

25 § 141. Die Leuchtbakterien als Reagens auf Enzyme und Sauerstoff.

Der Umstand, daß das *Photobacterium phosphorescens* BEIJER. mit Maltose Licht gibt, das *Ph. Pflügeri* BEIJER. aber nicht, benutzte BEIJERINCK zur Lösung physiologisch-chemischer Fragen, die mit der gewöhnlichen chemischen Methode nicht lösbar sind. Er weist z. B. Spuren
30 von Maltose bezw. von Diastase in folgender Weise nach. Er nimmt ein gut ausgekochtes Gemisch von Meerwasser mit 8 Proz. Gelatine, 1 Proz. Pepton und 0,25 Proz. Kartoffelstärke. Zu einer Portion davon fügt er einen Ueberschuß von *Photobacterium phosphorescens*, zu einer anderen einen solchen von *Ph. Pflügeri* und erhält nach der Erstarrung
35 gleichmäßig leuchtende Gelatineplatten, in welchen die Stärke, da diese Bakterien keine diastatischen Enzyme ausscheiden, unverändert bleibt. Bringt man nun auf die Platten verschiedene Diastasepräparate (aus Malz, Pankreasdiastase, Ptyalin usw.), so diffundieren sie nach allen Richtungen, verzuckern die Stärke, und es erscheinen alsbald auf den Platten mit
40 *Ph. phosphorescens* stark leuchtende Flecke, während auf denen mit *Ph. Pflügeri* davon nichts zu bemerken ist. Das *Ph. phosphorescens* zeigt demnach durch vermehrte Lichtproduktion die Gegenwart außerordentlich kleiner Spuren von Maltose, bezw. von Diastase, an. Um die von Spaltpilzen und Hefen ausgeschiedenen invertierenden Enzyme nachzuweisen,
45 läßt der genannte Forscher auf mit *Ph. phosphorescens* besäter Seewasser-Pepton-Gelatine, die infolge mangelnder Kohlenstoffverbindungen zu dunkeln beginnt, Diffusionsfelder von Rohrzucker, Raffinose und Milchzucker entstehen und bringt darauf Striche von Mikroben an. Sie bilden aus dem Zucker Invertzucker, und dieser macht die Diffusions-
50 felder aufleuchtend. Wird derselbe Versuch mit *Saccharomyces Kefyr*,

S. cerevisiae und *S. ellipsoideus* durchgeführt, so entstehen mit der Kefirhefe, weil sie invertiert (s. Bd. II, S. 127—128), in allen Zuckerfeldern Lichtfelder, hingegen bei Verwendung der beiden anderen Species zwar in dem Rohrzucker- und dem Raffinosegrund, nicht aber in dem mit Milchzucker, weil sie den Milchzucker nicht zu spalten vermögen. Nach Beobachtungen von SCHUURMANS-STEKHOVEN (1) wirkt aber Kefirhefe nicht spaltend auf Milchzucker ein. Da Kefirhefe Glycerin produziert und dieses Leuchtbakterien aufleuchten macht, so meint der genannte Autor, daß in BEIJERINCK's Versuchen das Glycerin das Aufleuchten bewirkt haben dürfte.

Die Leuchtbakterien entwickeln Licht nur bei Gegenwart von freiem **Sauerstoff,** und zwar genügen schon die geringsten Spuren dazu. Die feinsten Versuche über die Abhängigkeit des Leuchtens von Sauerstoff verdanken wir wiederum BEIJERINCK (2, 4, 5); vergl. S. 590. Er hat gezeigt, daß Photobakterien für Spuren von freiem Sauerstoff ein empfindlicheres Reagens abgeben als Natriumhydrosulfit oder Indigweiß (s. Bd. IV, S. 122) und daß sie infolgedessen durch die geringsten, von Algenzellen bei der Kohlensäureassimilation ausgeschiedenen Mengen von Sauerstoff zum Aufleuchten gebracht werden. BEIJERINCK (4) geht in der Weise vor, daß er Meeresdiatomeen oder andere Algen mit Leuchtbakterien in Gelatine (Meerwasser mit 10 Proz. Gelatine) vermischt und zwischen zwei parallele Glasplatten bringt. Darauf wird Licht oder ein Spektrum geworfen. Sowie auf die Gelatine wirksames Licht auffällt, leuchten die Bakterien an den Stellen der Sauerstoffentbindung auf. Später hat er (5) sich mit dieser Erscheinung noch eingehender beschäftigt und die photogenen Bakterien geradezu als ein vorzügliches, an Empfindlichkeit wohl nichts zu wünschen übriglassendes Mittel zur Untersuchung der Chlorophyllfunktion bezw. Sauerstoffentbindung benutzt. Ich (4) habe diese Leuchtbakterienmethode dann zur Prüfung der vor kurzem in Fluß gebrachten Frage nach der Kohlensäureassimilation außerhalb der Pflanze angewendet und den großen praktischen Wert dieser Methode von neuem erwiesen.

§ 142. Zur Theorie des Leuchtens.

Die Frage, wie das Leuchten bei den Bakterien zustande kommt, ist noch nicht gelöst. Es stehen auf diesem Gebiete hauptsächlich zwei Ansichten einander gegenüber. Die eine geht dahin, daß in der lebenden Zelle ein Stoff — wir wollen ihn Photogen nennen — gebildet wird, der nach außen ausgeschieden wird und extracellular leuchtet. Diese Ansicht (Photogen-Theorie) wird namentlich von FR. LUDWIG (4) vertreten, der sich dabei auf die wichtige Entdeckung RADZISZEWSKI's (1 u. 2) stützt, derzufolge verschiedene organische Körper, wenn sie sich in alkalischer Lösung mit aktivem Sauerstoff chemisch verbinden, alsdann leuchten; so z. B. Methylaldehyd, Traubenzucker, Lophin, viele ätherische Oele, gewisse Fettkörper usw. Die Entstehung solcher Stoffe nimmt auch LUDWIG für die Bakterien an und glaubt, daß hauptsächlich Aldehyde hierbei eine Rolle spielen könnten.

DUBOIS (4) nimmt ebenfalls einen Leuchtstoff — von ihm Luciferin genannt — an und meint, auf Grund seiner Versuche mit der Leuchtmuschel *Pholas* behaupten zu dürfen, daß das Leuchten der Bakterien und der Lebewesen überhaupt einen enzymatischen Prozeß darstellt, bei

dem das Luciferin durch ein von den Bakterien produziertes Enzym, die Luciferase, zum Leuchten gebracht wird.

Der Photogentheorie gegenüber steht die Ansicht BEIJERINCK's, der sich viele andere Forscher (LEHMANN, TOLLHAUSEN, KATZ, MAC KENNEY, 5 MACFADYEN u. e. a.) angeschlossen haben. Nach BEIJERINCK (3) wird nicht ein leuchtender Stoff, eine bestimmte leuchtende Verbindung, gebildet, sondern die Lichtentwicklung beruht auf einer spezifischen physiologischen Funktion analog der Fermentfunktion, der Kontraktilität und der Irritabilität, und zwar soll speziell die Umbildung des Peptons zu 10 organisierter lebender Substanz bei den Leuchtorganismen von Lichtentwicklung begleitet sein. Was zuächst die letztere Behauptung anbelangt, so kann man wohl nicht sagen, daß BEIJERINCK irgendwelche zwingende Gründe für dieselbe beigebracht hat. Der Umstand, daß die Leuchtbakterien üppig wachsen und sich vermehren können, ohne zu 15 leuchten, die Tatsache, daß sie noch bei sehr niederen Temperaturen, bei welchen das Wachstum auf ein Minimum beschränkt oder sistiert ist, zu leuchten vermögen, und endlich die Erfahrung, daß das Leuchten bei gewissen tierischen Lebewesen auch außerhalb der Zelle in einem Sekret vor sich gehen kann, all das spricht wohl nicht dafür, daß gerade 20 die Umformung der Peptone in lebende Substanz von einer Lichterscheinung begleitet wird. Wenn BEIJERINCK ferner in der Lichtentwicklung eine spezifische Lebensfunktion sieht, ähnlich der Fermentfunktion, so kann darauf erwidert werden, daß selbst die alkoholische Gärung, die noch bis vor wenigen Jahren als untrennbar verknüpft mit 25 der lebenden Zelle betrachtet wurde, heute auf Grund der Entdeckung der Zymase durch BUCHNER auch außerhalb der Zelle sich abspielen kann. Hingegen stimme ich mit BEIJERINCK darin überein, daß sich die Lichtentwicklung wenigstens bei den Pilzen — und dasselbe dürfte wohl für die meisten lichtentwickelnden Lebewesen Geltung haben — intra-30 cellular vollzieht. In der Literatur geht man vielfach von der irtümlichen Anschauung aus, daß die Photogen-Theorie einem intracellular verlaufenden Prozesse widerspreche. Hierfür liegt aber kein zwingender Grund vor. Ich bin Anhänger der Photogen-Theorie und stehe gleichzeitig auf dem Standpunkt, daß die Lichtentwicklung sich innerhalb der 35 Pilzzellen vollzieht.

Die von LUDWIG geäußerte Vermutung, daß die Leuchtbakterien selbst dunkel seien und die Kolonien nur infolge der ausgeschiedenen RADZISZEWSKI'schen Körper leuchten, kann ich nicht bestätigen. Ich habe nie das Geringste bemerkt, das für die Ausscheidung eines Leucht-40 stoffes gesprochen hätte. Immer ist das Licht (selbst bei der photographischen Aufnahme!) auf die Ausdehnung der Kolonie beschränkt; von einer diffusen Ausbreitung eines Photogens auch nur in die nächste Umgebung der Bakterienmasse ist nie etwas zu sehen. Auch sind die mit Chamberland-Filtern gewonnenen Filtrate leuchtender Kulturen stets 45 vollkommen dunkel. Das Photogen leuchtet also im Innern der Zelle und seine Entstehung ist ebenso wie etwa die der Zymase sicherlich an die lebende Zelle geknüpft. Insofern kann das Licht der Pflanze überhaupt als ein Lebenslicht im wahren Sinne des Wortes bezeichnet werden.

50 Aber so wie es geglückt ist, die Zymase aus der Hefe abzutrennen und außerhalb der Zelle zur Wirkung zu bringen, so wäre auch für das Photogen etwas Analoges denkbar, wenngleich alle darauf abzielenden Versuche bisher nur negative Resultate lieferten, wahrscheinlich des-

halb, weil das Photogen ein ungemein labiler Körper ist und nur in sehr geringen Mengen gebildet wird.

§ 143. Das Bakterienlicht, seine Eigenschaften und die Möglichkeit seiner praktischen Verwertung.

Die Farbe des Bakterienlichtes ist weißlich oder gelblichweiß, 5
grünlich oder blaugrün. Der Nährboden und der Zustand des Auges beeinflussen die Lichtfarbe.

Das Spektrum ist nach LUDWIG (3) ein kontinuierliches und erstreckt sich bei gewissen Arten von *b* (grün) bis ins Violett, bei neueren reicht es von *D* bis *G*, wobei die blauen und violetten Strahlen über- 10
wiegen. Meine Untersuchungen (5) ergaben für das Spektrum von *Bact. phosphoreum* (COHN) MOLISCH, *Bact. phosphorescens* FISCHER und *Microspira photogena* MOLISCH ungefähr denselben Wert von $\lambda = 570$ bis $\lambda = 450$. Die Spektra aller geprüften Pilze waren kontinuierlich, ohne dunkle Linien, ließen, abgesehen von dem Spektrum der überaus intensiv 15
leuchtenden *Pseudomonas lucifera* MOLISCH, wegen ihrer relativ geringen Lichtintensität keine Farben erkennen und wiesen neben gelben und blauen Strahlen vorwiegend grüne auf.

Die Art des Leuchtens ist von der der meisten Tiere insofern verschieden, als die Pilze stets andauernd leuchten. Die Bakterien- 20
kulturen leuchten tage-, wochen- oder monatelang ohne Unterbrechung, während die meisten Tiere zumeist nur auf äußere Reize hin für ganz kurze Zeit (Sekunden oder Minuten) aufleuchten. Das Licht der Bakterien ist immer ein ruhiges, niemals ein wallendes.

Das relativ intensive Licht mancher Bakterienarten mußte bald auf 25
den Gedanken führen, ob es denn nicht möglich wäre, das Bakterienlicht in Form einer Lampe zu verwerten, und das Verdienst, den Versuch zuerst gemacht zu haben, eine solche Lampe zu konstruieren, gebührt DUBOIS (5). Sie besteht im wesentlichen aus einem großen Glasgefäß mit flachem Boden, das mit leuchtender Bouillonflüssigkeit zum Teil ge- 30
füllt ist. Oben und seitlich hat das Glasgefäß je eine mit einem lockern Baumwollpfropf verschlossene Oeffnung. Eine die Oberseite des Glasgefäßes bedeckende Zinnfolie dient als Reflektor. Will man die Lampe aufleuchten lassen, so hat man nur mittelst einer Kautschukbirne von Zeit zu Zeit eine kleine Menge filtrierter Luft in die Bouillon einzuführen. 35
„Eine solche Nachtlampe“, sagt DUBOIS (5), „kann mehrere Nächte hintereinander im Gebrauche bleiben, ohne daß es nötig wäre, den Inhalt zu erneuern oder neue Nährflüssigkeit hinzuzufügen; sie ist von um so längerer Haltbarkeit, je weniger sie durch Luftzirkulation benutzt wird. Eine solche Lampe kann auch wohl als Dunkelzimmerlampe bei photo- 40
graphischen Arbeiten benutzt werden.“ Diese Lampe erstrahlte ihrer inneren Einrichtung nach nur kurze Zeit in stärkerem Lichte, nämlich wenn in die Kulturflüssigkeit Luft eingeblasen wurde. Da infolge der intensiven Atmung der Bakterien der in einer Flüssigkeit absorbierte Sauerstoff sehr bald verbraucht wird, so erlischt das Licht alsbald, nur 45
die oberste Schicht bleibt in Berührung mit der atmosphärischen Luft leuchtend. Um diesem Uebelstand abzuhelfen, benutzte DUBOIS gelegentlic
der letzten Weltausstellung in Paris (1900), wie er mir briefli
teilte, zur Beleuchtung eines Saales im optischen Palast a

Glasgefäße, deren innere Oberfläche mit einer Gelatinelage ausgekleidet und mit Meeresleuchtbakterien geimpft war.

Ohne von dieser letzteren Lampenart Kenntnis zu haben und ganz unabhängig davon habe ich (3) schon im Jahre 1903 versucht, mir eine Bakterienlampe mit einer möglichst lang andauernden Leuchtkraft zu konstruieren, namentlich als ich in dem *Bact. phosphoreum* (Cohn) Molisch eine Bakterie kennen lernte, die in unserer nächsten Umgebung so leicht zu beschaffen ist und die in der Intensität und Dauer ihres Lichtes fast alle bisher bekannten Photobakterien übertrifft. Ich verfuhr bei der Herstellung meiner Lampe in folgender Weise. Ein Erlenmeyer-Kolben von 1—2 l aus Glas wird mit etwa 200—400 ccm Salzpeptongelatine beschickt, mit einem Baumwollpfropf verschlossen und dann sterilisiert. Nach Abkühlung, und bevor die Gelatine wieder erstarrt, wird von einer jungen Zucht von *Bact. phosphoreum* geimpft und der Kolben dann in horizontaler Lage und unter langsamem Drehen im Strahle eines Wasserleitungshahnes gekühlt, wobei die Gelatine an der ganzen inneren Oberfläche nach wenigen Minuten erstarrt. In einem kühlen Zimmer entwickeln sich schon nach 1—2 Tagen an der ganzen Innenwand so reichlich Kolonien, daß der Kolben dann in wunderschönem bläulichgrünen Lichte erglänzt und mit seinem ruhigen matten Glanze einen herrlichen Anblick darbietet. Die *Fig. 92* stellt eine Photographie meiner Bakterienlampe in ihrem eigenen Lichte dar. Diese Lampe hat in einem kühlen Raume (10 °C) die ausgezeichnete Eigenschaft, durch etwa 14 Tage relativ intensiv und später mit abnehmender Intensität zu leuchten. Ihr Licht gestattet, die Taschenuhr, die Skala des Thermometers abzulesen, groben Druck zu entziffern, das Gesicht einer Person auf 1—2 Meter zu erkennen. Man kann die Lampe, deren Licht in finsterer Nacht noch auf 64 Schritte wahrnehmbar ist, benutzen, um Gegenstände im finstern Zimmer zu finden. Ob das Bakterienlicht, wenn es gelingen sollte, durch Auffindung neuer, noch stärker leuchtender Arten, durch künstliche Zuchtwahl und durch bestimmte Zusammensetzung des Nährbodens ein noch intensiveres Licht zu erzielen, einer praktischen Verwendung fähig ist, wird die Zukunft lehren. Dabei setze ich voraus, daß man sich hierzu intensiv leuchtender Bakterien bedient, und daß man für das Leuchten die günstigsten Bedingungen schafft, denn die Lichtintensität

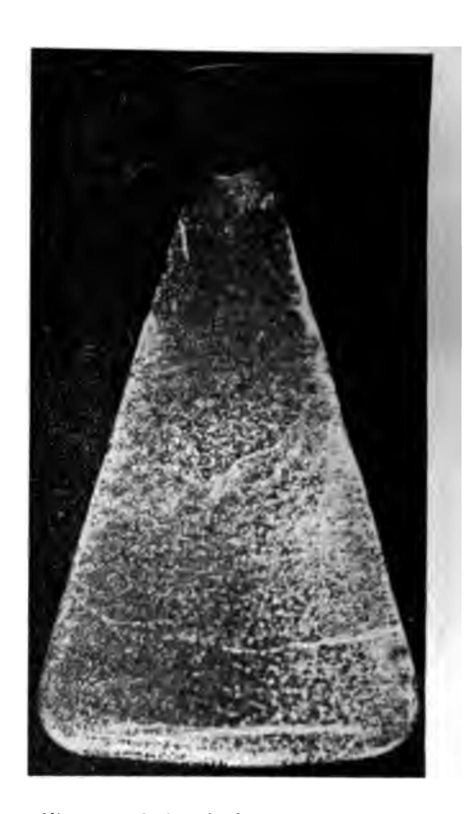


Fig. 92. Bakterienlampe, geimpft mit *Bacterium phosphoreum* (Cohn) Molisch, in ihrem eigenen Lichte photographiert. Expositionsdauer 12 Stunden. Die Innenwand zeigt die leuchtenden Kolonien.

schwach leuchtender Bakterien ist, wie Messungen von LODE (1) ergeben haben, sehr gering. LODE bestimmte mittelst eines Fettfleckphotometers unter passender Modifikation der BUNSEN'schen Methode die optische Lichtintensität leuchtender Vibrionen. Die damit gewonnenen Werte waren außerordentlich klein; die Lichtintensität betrug, bezogen auf 1 qmm der Kolonie, im günstigsten Falle bei „*Vibrio* RUMPEL“ 0,000 000 000 785 HEFNER'sche Lichteinheiten. Zur Erzielung der Helligkeit einer Normalkerze durch Leuchtbakterien ist nach LODE eine Kolonienfläche von 2000 qm nötig. Auf Grund dieser Messungen scheint allerdings eine praktische Verwendung des Bakterienlichtes ziemlich aussichtslos; allein ich bin überzeugt, daß das Ergebnis der Intensitätsbestimmung nicht gar so niedrig ausgefallen wäre, wenn LODE sich zu seinen Bestimmungen nicht bloß der Photovibrionen sondern auch starkleuchtender Bakterien, z. B. des *Bact. phosphoreum* oder der *Pseudomonas lucifera* MOLISCH und anderer, bedient hätte.

Die photographische Wirkung des Bakterienlichtes ist bereits von verschiedener Seite, so zuerst von HAREN-NOMAN, dann von B. FISCHER, DUBOIS, SUCHSLAND (1), BARNARD (1), untersucht worden, wobei sich gezeigt hat, daß es nicht bloß gelingt, die Bakterienkulturen in ihrem eigenen Lichte sondern auch verschiedene Gegenstände in diesem Lichte zu photographieren. Mit Hilfe eines Unars aus der Werkstätte von C. ZEISS gelang es mir (3), leuchtende Kolonien von *Bact. phosphoreum* (COHN) MOLISCH in relativ kurzer Zeit, schon nach 5 Minuten, in ihrem Eigenlichte zu photographieren. Exponiert man mehrere Stunden, so erhält man sehr scharfe Bilder, wobei nicht bloß die Kolonien sondern auch die Begrenzungslinien der Kulturgefäße im Bilde auftreten (s. *Fig. 93* u. *Fig. 94*). Bei direktem Auflegen einer Strichkultur genügte schon eine Sekunde Belichtung, um eine merkbare Schwärzung der Platte hervorzurufen. Im Lichte mehrerer meiner Bakterienlampen konnte ich nach mehrstündiger Expositionszeit bequem verschiedene Objekte photographieren. FRANKLAND (1) hat beobachtet, daß auch gewöhnliche, nicht

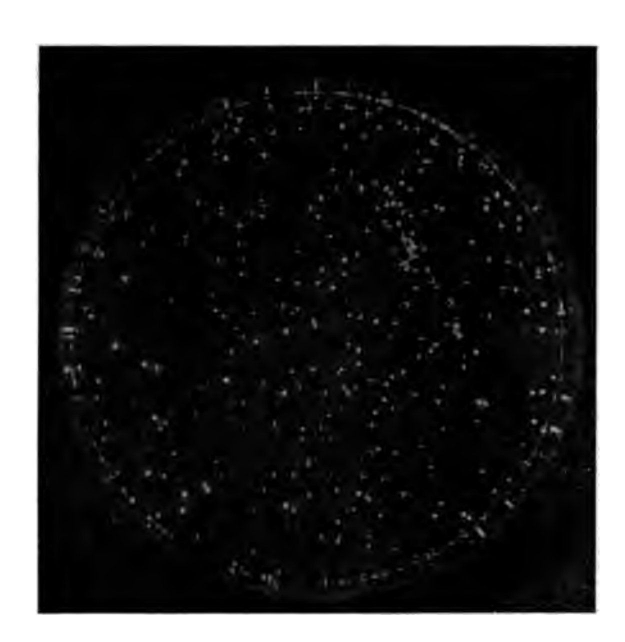


Fig. 93. Photographie leuchtender Kolonien von *Bacterium phosphoreum* (COHN) MOLISCH in ihrem eigenen Lichte. Die Kolonien waren sechs Tage alt und befanden sich in einer Petrischale, deren Umgrenzung in der Photographie auch zu sehen ist. Expositionszeit 15 Stunden.

leuchtende Bakterien (*Proteus vulgaris*, *Bact. coli commune* u. a.) auf die photographische Platte wirken, wenn sie der empfindlichen Schichte sehr nah gerückt werden und von ihr durch Glas nicht geschieden sind. Hier



Fig. 94. Photographie einer Strichkultur von *Bacterium phosphoreum* (COHN) MOLISCH in ihrem eigenen Lichte. Die Photographie läßt auch die Umgrenzung der Eprouvette und des mit den Bakterien durchtränkten und deshalb leuchtenden Baumwollpfropfes erkennen. Expositionszeit 6 Stunden.

handelt es sich aber höchst wahrscheinlich nicht um Licht oder unsicht-
5 bare Strahlen sondern um eine chemische Wirkung der von den Bakterien ausgehenden flüchtigen und die Silbersalze angreifenden Stoffe, wie dies von mir (5) auch für Holz, Papier und Metalle gezeigt wurde.

Meine Versuche (1), die von NADSON (1) bestätigt wurden, haben auch gelehrt, daß das Bakterienlicht bei heliotropisch empfindlichen
10 Pflanzen sehr deutlichen positiven Heliotropismus hervorzurufen vermag, und daß sich für derartige Experimente besonders geeignet erwiesen: Keimlinge der Linse, Saatwicke, Erbse, Mohn und von Pilzen die Frucht-



Fig. 95. Positiver Heliotropismus von Erbsenkeimlingen, hervorgerufen durch das Licht einer in der Petrischale (rechts) befindlichen Strichkultur von *Bacterium phosphoreum* (COHN) MOLISCH. Alle Keimlinge erscheinen zum Bakterienlicht hin positiv heliotropisch gekrümmt.

träger von *Phycomyces nitens*. Man vergleiche dazu die *Fig. 95*. Hingegen konnte ich (5) zeigen, daß das Bakterienlicht, wahrscheinlich
15 wegen seiner geringen Intensität, nicht imstande ist, ein Ergrünen bei verschiedenen Keimlingen hervorzurufen. Die entgegengesetzt lautenden Angaben ISSATCHENKO's (1) wurden von mir (5) und RICHTER (1) widerlegt.

Die Lichtentwicklung der Bakterien kann auch mit Vorteil verwendet werden, um Risse, Sprünge und größere Poren der aus Biskuit oder Infusorienerde erzeugten Bakterienfilter (s. S. 523) nachzuweisen. Nach BEIJERINCK (6) vermögen Leuchtbakterien durch fehlerhafte CHAMBERLAND'sche Filterkerzen hindurchzuwachsen und sich außerhalb derselben auszubreiten. Er bezeichnet daher die Leuchtbakterien als ausgezeichnete Testobjekte zur Prüfung derartiger Filtriereinrichtungen. —

In diesem Kapitel beschränkte ich mich lediglich auf die Lichtentwicklung der Bakterien. Ueber die photogenen Eumyceten wird das Nötige auf S. 299—302 des Dritten Bandes gesagt werden. Ausführlichere Angaben über Leuchtbakterien sowie über die Lichtentwicklung der Pflanze überhaupt findet man in meiner Monographie (5) über diesen Gegenstand.

Literatur

zum Kapitel Photogene Bakterien.

***Barnard,** J, E., (1) Nature, 1902, S. 536. ***Beijerinck,** M. W., (1) Archives Néerlandaises des Sciences exactes et nat., 1889, Bd. 23, S. 401. — (2) Ebenda, S. 416. — (3) Verslagen en Mededeelingen der Koninkl. Akad. v. Wetenschappen te Amsterdam. Afd. Natuurkunde, 2 de Reeks, Deel VII, 1890, S. 239; ref. in Centralbl. f. Bakt., 1890, Bd. 8, S. 616. — (4) Bot. Ztg., 1890, Bd. 48, S. 744. — (5) Koninkl. Akad. v. Wetenschappen te Amsterdam, 1901, S. 45. — (6) Nieuwe Rotterdam'sche Courant, 1890; ref. in Hyg. Rundsch., 1891. Bd. 1, S. 209. ***Dubois,** R., (1) Extrait de l'Echo de Sociétés et Associations vétérinaires. Lyon, 1889, S. 1. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1900, Bd. 131, S. 476. — (3) Extrait des Annales de la Société Linnéenne de Lyon, 1892, Bd. 39. — (4) Leçons de Physiologie générale et comparée. Paris 1898, Bd. 2. — (5) Die Umschau, 1901, S. 221. ***Eijkman,** C., (1) Geneeskundig Tijdschrift v. Nederlandsch-Indië, 1892, Deel 32, Afl. 4, S. 109; ref. in Centralbl. f. Bakt., 1892, Bd. 12, S. 656. ***Fischer,** Bernhard, (1) Z. f. Hyg., 1887, Bd. 2. S. 54. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1888, Bd. 3, S. 105. — (3) Ebenda, 1888, Bd. 4, S. 89. — (4) Die Bakterien des Meeres nach den Untersuchungen der Planktonexpedition. Kiel u. Leipzig 1894. ***Foà und Chiapella,** (1) Archivio di biologia norm. e patologica, 1903, Bd. 62, Heft 3. ***Forster,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 2, S. 337. — (2) Ebenda, 1892, Bd. 12, S. 431. ***Frankland,** Percy, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 24, S. 609. ***Giard,** A., (1) Comptes rendus Soc. de Biologie, 1890, 9. sér., Bd. 2, S. 188. — (2) Ref. in Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. 6, S. 645. ***Giard,** A., und **Billet,** A., (1) Comptes rendus Soc. de Biologie, 1889, 9. sér., Bd. 1, S. 593. ***Heinrich,** Placidus, (1) Die Phosphoreszenz der Körper. Nürnberg 1811—1815, S. 364. ***Heller,** J. Florian, (1) Archiv f. physiolog. u. patholog. Chemie u. Mikroskopie etc. Wien. Neue Folge, 1853 u. 1854, Bd. 6. ***Henneberg,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1899, Bd. 25, S. 649. ***Issatchenko,** B., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 497. ***Katz,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 1891, Bd. 9, S. 157. ***Kutscher,** (1) Deutsche medizin. Wochenschrift, 1893, Nr. 49; ref. in Centralbl. f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 44. — (2) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1895, Bd. 18, S. 424. ***Lehmann,** K. B., (1) Centralbl. f. Bakt., 1889, Bd. 5, S. 785. ***Lode,** Alois, (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1904, Bd. 35, Orig., S. 524. ***Ludwig,** Friedr., (1) Ueber die Phosphoreszenz d. Pilze u. d. Holzes, Dissert., Hildburghausen 1874. — (2) Hedwigia, 1884, Bd. 23, S. 33. — (3) Z. f. wiss. Mikroskopie, 1884, Bd. 1, S. 181. — (4) Centralbl. f. Bakt., 1887, Bd. 2, S. 372. — (5) Lehrbuch d. nied. Kryptogamen. Stuttgart 1892, S. 68. ***Macfadyen,** Allen, (1) Section B (Chemie) der British Association zu Southport, 1903; ref. in Naturw. Rundschau, 1903, S. 655. — (2) Proceedings Royal Society of London, 1900, Bd. 66, S. 180. — (3) Chemical News, 1903, Bd. 88, S. 193. ***Macfadyen,** A., und **Rowland,** S., (1) Proceedings Royal Society of London, 1900, Bd. 66, S. 339 u. 488. ***Mac Kenney,** Randolph E. B., (1) Proceedings biological society of Washington, 1902, Bd. 15, S. 213. ***Migula,** W., (1) System der Bakterien. Jena 1897 u. 1900. ***Molisch, Hans,** (1) Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien, 1902, 1. Abt., Bd. 111, S. 141. — (2) B[illegible] Ztg., 1. Abt., 1903, Bd. 61, S. 1. — (3) Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien, 1[illegible] 1. Abt., Bd. 112, S. 297. — (4) Bot. Ztg., 1904, 1. Abt., Bd. 62, S. 1. — (5) Leu[illegible] Pflanzen. Jena 1904. — (6) Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien, 1904, 1. Abt. S. 513. — (7) Ebenda, 1905, Bd. 114, S. 3. — (8) Verhandlungen d. Ges. deutsch. N[illegible] u. Aerzte, 77. Vers. zu Meran, 1905, I. Teil, S. 58. ***Nadson,** G., (1) Bulletin

suchungen ü. Bact. phosphorescens Fischer. Dissert., Würzburg 1889.

Achter Abschnitt.

Glycosidspaltungen und Oxydasenwirkungen.

Von Prof. Dr. J. BEHRENS.

(*Manuskript-Einlauf: 21. Juli 1907.*)

26. Kapitel.

Glycosidspaltungen.

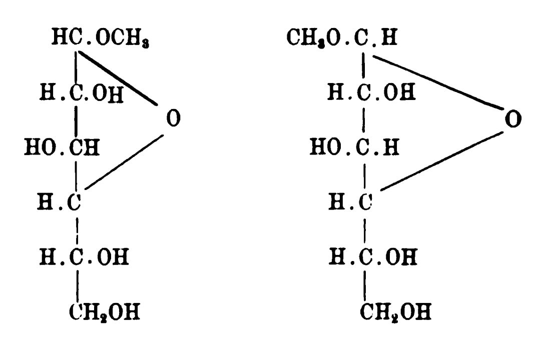
§ 144. Allgemeines über Glycoside und deren Spaltung.

Als Glycoside bezeichnet man allgemein die esterartigen Verbindungen der Zuckerarten (Kohlenhydrate) mit Alkylen, bei denen das Kohlenhydrat die Rolle einer Säure spielt. Durch Hydrolyse mit Hilfe verdünnter Säuren und anderer Agentien oder mit Hilfe spezifischer En- 5 zyme werden sie in das Kohlenhydrat einerseits und einen Alkohol bezw. ein Phenol andererseits gespalten.

Aufschluß über die Konstitution der Glycoside gaben in erster Linie die Untersuchungen EM. FISCHER's (1), nachdem durch denselben Forscher die Konstitution der Kohlenhydrate selbst einigermaßen aufgeklärt worden 10 war. Nach ihm wird die Konstitution des einfachsten, zuerst von ihm künstlich dargestellten Glycosids, des Methylglucosids, des Methylesters der d-Glucose, durch die Formel ausgedrückt

$$
\begin{array}{l}
\quad CH.OCH_3 \\
\quad | \\
\quad CH.OH \\
O \quad | \\
\quad CH.OH \\
\quad | \\
\quad CH \\
\quad | \\
\quad CH.OH \\
\quad | \\
\quad CH_2OH.
\end{array}
$$

Entsprechend dem asymmetrischen Bau des Moleküls ex[istieren vom] Methylglucosid zwei Stereoisomere, das α- und das β-Methy[lglucosid]



Wie die d-Glucose, so können natürlich auch alle anderen Zuckerarten, Aldosen und Ketosen, Pentosen, Hexosen usw., auch die Polysaccharide, mit entsprechenden (meist eine Hydroxyl-Gruppe enthaltenden) Körpern Glycoside bilden. Dementsprechend sind zu unterscheiden: 5 Arabinoside, Xyloside, Glucoside, Fructoside, Galactoside, Mannoside usw. Der andere Paarling aller bis jetzt bekannten natürlich (in Pflanzenteilen) vorkommenden Glycoside — vielleicht mit einer einzigen, zurzeit noch etwas fraglichen Ausnahme (Glycosid der Bernsteinsäure: Glucobernsteinsäure, die in fleischigen Früchten allgemein vorkommen soll) — ist 10 ein Benzolderivat; man vergleiche darüber J. J. VAN RIJN (1).

Wie schon im Vorhergehenden erwähnt ist, besitzen wir in verdünnten Säuren bezw., genauer gesagt, in Wasserstoffionen ein sehr allgemein wirksames und anwendbares Mittel, um Glycoside der verschiedensten Zuckerarten zu spalten. In der Natur geschieht die Spaltung der in 15 ihr häufigen Glycoside durch Gärungsorganismen, welche sich glycosidspaltender Enzyme bedienen. Wie EM. FISCHER (3) und seine Schüler gezeigt haben, ist es aber keineswegs ein einziges Enzym, welches alle bekannten, künstlich dargestellten oder natürlich vorkommenden Glycoside spaltet, sondern den verschiedenen Konstitutionen und Stereoisomeren 20 entsprechen auch verschiedene Enzyme. Nach dem berühmten Vergleiche EM. FISCHER's muß ein Enzym, um ein Glycosid zu spalten, zu demselben wie der Schlüssel ins Schloß passen (s. S. 266). So werden im allgemeinen die Glycoside verschiedener Zuckerarten auch durch verschiedene Enzyme gespalten. Enzyme, welche die glycosidischen Ester der d-Glucose 25 spalten, sind ohne Wirkung auf die Glycoside der Pentosen. Ja, die Versuche FISCHER's mit seinen künstlich dargestellten Glucosiden der d-Glucose haben gezeigt, daß auch den beiden möglichen Stereoisomeren verschiedene spaltende Enzyme entsprechen. Die α-Glucoside werden durch Invertase, die β-Glucoside durch Emulsin gespalten, durch jenes 30 Enzym, das WÖHLER und LIEBIG (1) im Jahre 1837 in den Mandelsamen als Begleiter des natürlichen Glycosids Amygdalin auffanden, und dessen spaltende Wirkung auf das Amygdalin sie zuerst nachwiesen. Wie FISCHER (2) weiter gezeigt hat, wird Amygdalin allerdings auch durch Hefen-Maltase gespalten. Während indessen unter der Einwirkung von 35 Emulsin das Amygdalin entsprechend der Gleichung

$$C_{20}H_{27}NO_{11} + 2H_2O = 2C_6H_{12}O_6 + C_7H_6O + HCN$$

in zwei Moleküle d-Glucose und je ein Molekül Benzaldehyd und Cyanwasserstoffsäure zerfällt, entstehen als Produkte der Spaltung durch 40 Maltase, entsprechend der Gleichung

$$C_{20}H_{27}NO_{11} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_{14}H_{17}NO_6,$$

nur ein Molekül d-Glucose und ein einfacheres Glucosid der d-Glucose, das Mandelnitril-Glucosid. Das Amygdalin, das scheinbare Urbild der Glycoside, ist also in Wahrheit ein schon recht kompliziertes Glycosid, ein Derivat eines Disaccharides, der Maltose, oder nach AULD (1) einer noch unbekannten Diglucose, die durch Emulsin sowohl als auch durch 5 Maltase gespalten wird. Daß durch Mandelemulsin nicht nur die Bindung des Mandelsäurenitrils, C_6H_5—CH.OH.CN, an das Disaccharid, sondern auch dieses selbst gespalten wird, ist, nebenbei bemerkt, wohl darauf zurückzuführen, daß das als Emulsin bezeichnete Enzympräparat nicht einheitlicher Natur ist, sondern neben einem glycosidspaltenden auch 10 ein der Maltase ähnlich wirkendes Enzym enthält. Man vergleiche darüber BOURQUELOT und HÉRISSEY (1 u. 3), die den Nachweis lieferten, daß, entgegen der Ansicht EM. FISCHER's, Emulsin nicht identisch ist mit dem milchzuckerspaltenden Enzym Lactase, und daß die von FISCHER beobachtete Wirkung des Emulsins auf Milchzucker (s. Bd. IV, S. 421) 15 von der Gegenwart von Lactase im Emulsin-Präparat herrührte. Von BRACHIN (1) wurde das kurz darauf bestätigt. Auch POTTEVIN's (2) Untersuchungen führten zu dem gleichen Ergebnis. Wir kommen später auf das Amygdalin und einige ihm nahestehende Glycoside zurück.

Hier sei nur noch darauf aufmerksam gemacht, daß die natürlich 20 vorkommenden Glycoside der d-Glucose nicht von Invertase, sondern immer nur von Emulsin oder emulsinähnlichen Enzymen gespalten werden. Danach ist der Schluß gerechtfertigt, daß die in der Natur vorkommenden, bis jetzt bekannten d-Glucoside sämtlich der β-Reihe angehören. BOURQUELOT (3) hat darauf eine Methode des Nachweises neuer Glycoside 25 der d-Glucose in Pflanzen gegründet, die ihm sowie seinen Schülern ermöglichte, eine Anzahl neuer Glycoside zu entdecken: Die in den zu untersuchenden Pflanzenteilen vorhandenen Enzyme werden durch Behandlung mit siedendem Alkohol zerstört und dann der Gehalt der Untersuchungsobjekte an reduzierendem Zucker direkt und nach succes- 30 siver Behandlung zunächst mit Invertase, dann mit Emulsin bestimmt. Ein Steigen des Zuckergehalts nach Einwirkung von Invertase weist auf die Gegenwart von Rohrzucker, ein weiteres nach Behandlung mit Emulsin auf Anwesenheit von β-Glycosiden hin. Mit Hilfe dieser Methode wiesen BOURQUELOT β-d-Glucoside im Rhizom von *Scrophularia* 35 *nodosa*, CHAMPENOIS (1) in Samen von *Aucuba japonica*, LAURENT (1) und BOURQUELOT und HÉRISSEY (5) in *Strychnos*-Samen, VINTILESCO (2) bei Oleaceen, DANJOU (1) bei Caprifoliaceen nach. Bezüglich des Mechanismus und Verlaufs der Spaltung der Glycoside durch Emulsin sei insbesondere auf TAMMANN (1) sowie HENRI und LALOU (1) verwiesen. 40

Wie schon früher für andere Enzyme nachgewiesen worden war, so ist auch das Emulsin als ein Katalysator erkannt, der sowohl spaltend wie aufbauend wirkt, der einerseits β-d-Glucoside spaltet, andererseits aber auch die Spaltungsprodukte zum Glycosid vereinigt. Die Spaltung der Glycoside durch Emulsin ist daher, wenigstens in 45 zahlreichen Fällen, nur eine partielle. Es stellt sich ein Gleichgewichtszustand zwischen Glycosid und Spaltungsprodukten ein. Unter anderen hat H. TER MEULEN (1) das zur Bestimmung der Konstitution von Glycosiden benutzt, indem er die Hemmung ihrer enzymatischen Spaltung durch verschiedene Zuckerarten verfolgte. Hatte EMMERLING (1) durch 50 Einwirkung von Maltase auf Mandelsäurenitril-Glucosid und d-Glucose synthetisch Amygdalin herstellen können (s. Bd. IV, S. 415), so zeigte VISSER (1), daß bei Gegenwart von Emulsin in wässeriger Lösung aus

Salicylalkohol und Glucose Salicin gebildet wird, entsprechend der Gleichung $C_6H_4(OH).CH_2OH + C_6H_{12}O_6 = C_{13}H_{18}O_7 + H_2O$.

Uebrigens werden, wie im folgenden noch weiter auszuführen sein wird, durchaus nicht alle natürlichen d-Glycoside durch Emulsin ge-
5 spalten; vielmehr geht unter ihnen die Spezialisierung der Enzyme noch weiter.

Viel weniger als über die spaltenden Enzyme der d-Glycoside sind wir über die der Glycoside der anderen Zuckerarten unterrichtet. Nur für eines der im Pflanzenreich neben d-Glycosiden verbreitetsten Glyco-
10 side, die sich von der Rhamnose, einer Methylpentose $C_5H_9(CH_3)O_5$, ableiten, ist das spaltende Enzym bekannt, nämlich für das in den sogen. Gelbbeeren (Früchten von verschiedenen *Rhamnus*-Arten) vorkommende Xanthorhamnin ($C_{48}H_{66}O_{29}$), das nach Ch. und Gg. Tanret (1) unter der Einwirkung des ebenfalls in den Früchten vorhandenen Enzyms
15 Rhamninase in Rhamnetin und das Trisaccharid Rhamninose zerfällt. Letztere ($C_{18}H_{32}O_{14}$) wird bei fortgesetzter Einwirkung der Enzyme der Früchte sowie durch verdünnte Säuren in zwei Moleküle Rhamnose und ein Molekül Galactose gespalten. Nach Ward und Dunlop (1) ist ähnlich, wie es Johannsen (1), Guignard (1) und Green (1) für das
20 Emulsin einerseits und für die Blausäure liefernden Glycoside andererseits nachgewiesen haben, das Glycosid der Gelbbeeren räumlich getrennt von den spaltenden Enzymen lokalisiert, ersteres im Pericarp, letztere in der Raphe der Samen.

Ueber die Enzyme, welche die natürlich vorkommenden Ester (Gly-
25 coside) der Pentosen, der Galactosen usw. spalten, sind wir noch nicht näher unterrichtet. Untersuchungen über deren Spaltung würden gewiß dankenswerte Ergebnisse liefern. Ueber die Spaltung des allerdings noch etwas hypothetischen, im Holz vorkommenden Celluloseesters (Glycosids der Cellulose), des Hadromals, vergleiche man Bd. III, S. 290.

30 Nicht immer ist das spaltende Enzym wasserlöslich, wie wir später noch sehen werden, und es sei schon hier im Vorbeigehen erwähnt, daß Beijerinck (3) von der enzymatischen Spaltung der Glycoside eine katabolitische unterscheidet, bei der die Spaltung direkt durch das lebende Protoplasma erfolgen soll; man vergleiche darüber auch J. van der Leck (1).

35 Ueber die Rolle der natürlichen Glycoside im Stoffwechsel der Pflanzen vergleiche man Weevers (1) und Russel (1).

§ 145. Bildung und Spaltung von Glycosiden durch höhere Pilze und Bakterien.

Während bei den höheren Pflanzen (Gymnospermen und Angiospermen)
40 Glycoside außerordentlich, vielleicht allgemein verbreitet sind, ist über ihr Vorkommen bei Gärungsorganismen selbst um so weniger bekannt. Nur Verwandte der eigentlichen Glycoside, Aether von den Zuckerarten nahe verwandten mehrwertigen Alkoholen, sind für einige Flechtenarten bekannt. Es handelt sich um gewisse Muttersubstanzen der Lackmusfarb-
45 stoffe, des Persio und der Orseille über welche schon auf S. 291 dieses Bandes gesprochen worden ist. Nach Heeren (1) kommt die Lecanorsäure in *Roccella*-Arten, wenigstens zum Teil, als Erythrin, in Verbindung mit Erythrit $C_4H_6(OH)_4$, vor. Neuere Untersuchungen über die Konstitution und das Vorkommen des Erythrins verdanken wir

JUILLARD (1); man vergleiche auch RONCERNAY (1), O. HESSE (1) und GORIS und RONCERNAY (1).

Gehören schon die Muttersubstanzen der Flechtenfarbstoffe sicher höchstens in die Verwandtschaft der Glycoside, und auch das nur zum Teil, so ist sicher ebenso fraglich und der Bestätigung bedürftig die 5 glycosidische Natur einiger giftiger Bestandteile bezw. Stoffwechselprodukte von Pilzen. So geben ABEL und FORD (1) an, daß der Giftstoff der *Amanita phalloides* (s. S. 275) ein stickstoffhaltiges Glycosid (Pentosid), Amanita-Hämolysin, sei. Der Ergotinsäure (Sklerotinsäure) des Mutterkorns, der LEWIN (1) noch glycosidische Natur zuschreibt (s. S. 277), wird 10 diese schon von DRAGENDORFF und PODWISSOWSKI (1) abgesprochen. Nach BARGER und CARR (1) ist überhaupt Ergotoxin das Gift. Nach GABRILOWITSCH (1) ist der Giftstoff des „trunkenen" Getreides (s. S. 612) ein stickstoffhaltiges Glycosid $C_{22}H_{44}N_8O_6$, das von *Fusarium roseum* auch in Reinkultur auf Bouillon und Getreidekörnern gebildet wird. 15 Träger der Giftwirkung soll der stickstoffhaltige Paarling des Glycosides sein, der übrigens den Alkaloiden nicht nahe stehen soll.

Viel Aufsehen erregte vor einigen Jahren eine Veröffentlichung WEIL's (1), nach der das bisher meist als normaler Bestandteil der Kartoffelpflanze betrachtete stickstoffhaltige Glycosid Solanin als Stoffwechselprodukt 20 zweier auf Kartoffeln gefundener Bakterien, *Bacterium solaniferum non colorabile* und *Bact. solaniferum colorabile*, aufzufassen wäre, die allein unter 13 geprüften Kartoffelbewohnern zur Solaninbildung befähigt sein sollten. WINTGEN (1), der auch die ältere Literatur (SCHMIEDEBERG und MEYER, SCHNELL) anführt, konnte allerdings die Bildung von Solanin durch die 25 genannten Bakterien nicht bestätigen und bekennt sich auf Grund seiner Untersuchungen zu der alten Ansicht, daß das Solanin ein in wechselnder Menge entstehendes Stoffwechselprodukt der Kartoffelpflanze sei. Neue entscheidende Versuche, welche gegen diese Auffassung sprächen, hat WEIL (2) auch neuerdings nicht erbracht, das — sogar reichlichere — 30 Vorkommen des Solanins in Keimen, Blättern und Kraut durch seine nur für die relativ solaninarmen Knollen mögliche Theorie nicht einmal zu erklären versucht. Und MORGENSTERN (1) fand neuerdings kranke (bakterienreiche) Kartoffeln keineswegs reicher an Solanin als gesunde, das Solanin selbst aber überraschend resistent gegenüber den Fäulnis- 35 organismen. Ueber die Konstitution des Solanins vergleiche man insbesondere ZEISEL und WITTMANN (1), sowie VOTOČEK und VONDRÁČEK (1), die von Zuckerarten d-Glucose, Rhamnose und Galactose vorfanden.

Haben sich die Angaben über die Bildung echter Glycoside durch und in Gärungsorganismen bisher auch nicht als sicher begründet er- 40 wiesen, so kann doch die Möglichkeit um so weniger in Abrede gestellt werden, als die Bildung glycosidspaltender Enzyme durch Gärungsorganismen vielfach festgestellt und andererseits (s. S. 643) die Umkehrbarkeit der enzymatischen Wirkung auch für die Glycoside inzwischen nachgewiesen worden ist. 45

Angaben über die Spaltung von Glycosiden durch Schimmelpilze (Aspergilleen und Penicillien bezw. Mucorineen) findet man
bezw. S. 526 des Vierten Bandes. Den dort gemachten Angab
nach, daß nach KLEBS (2) manche Glycoside eine gute Koh
für *Saprolegnia* bilden (Coniferin und, weniger gut, auch
Salicin, Aesculin). Saponin (durch Emulsin nicht spalth
lich, noch ausgesprochener Phloridzin und Quercitrin
rend Arbutin sich ziemlich indifferent verhielt.

auch die nicht-nährenden Glycoside gespalten werden und erst die aromatischen Spaltungsprodukte schädlich wirken. Von *Sporodinia grandis* wird nach KLEBS (1) das Aesculin nicht nur gespalten, sondern auch verwertet, während die anderen geprüften Glycoside (Amygdalin, Salicin, Arbutin, Coniferin, Saponin) wohl, wenigstens zum Teil (Amygdalin), zersetzt wurden, aber auf das Wachstum des Mycels ungünstig einwirkten, es sogar nach einigen Tagen töteten. BEHRENS (1) wies für *Botrytis vulgaris* (= *B. cinerea*, s. 15. Kap. des V. Bds.) und *Monilia fructigena* (s. Bd. V, S. 41), das Vermögen nach, β-Glycoside (Arbutin, Salicin) sowie das Rhamnosid Quercitrin zu spalten. BRUNSTEIN (1) bestätigte das bezüglich der *Botrytis* für Salicin, Arbutin, Amygdalin, Helicin, Coniferin und wies auch für *Monilia candida* (s. Bd. IV, S. 335) Spaltungsvermögen für β-Glycoside nach.

Im wässerigen Extrakt verschiedener Baumparasiten (holzzerstörender Basidiomyceten) fand BOURQUELOT (1) glycosidspaltende Enzyme, welche erdbewohnenden Pilzen fehlten. Unter letzteren führt nach E. ROUGE (1) indes der *Lactarius sanguifluus* FR. Emulsin. Nach BOURQUELOT und HÉRISSEY (1) scheint das Enzym von *Polyporus squamosus* dem Emulsin nahe zu stehen, von dem es sich nur durch seine — allerdings geringe — Wirkung auf Populin und Phloridzin unterscheidet. Auch BULLER (1) fand neuerdings Emulsin im Fruchtkörper von *Polyporus squamosus*, nachdem (vergl. Bd. III, S. 290) bereits KOHNSTAMM (1) den Befund von BOURQUELOT und HÉRISSEY bestätigt und Emulsin auch bei *Merulius lacrymans* und *Agaricus melleus* nachgewiesen hatte. Nach HÉRISSEY (2) enthalten fast alle Baumparasiten Emulsin. Nebenbei sei bemerkt, daß HÉRISSEY (1) und HEUT (1) Emulsin auch in einer Anzahl von (besonders die Rinde bewohnenden) Flechten fanden. Man vergleiche auch S. 270.

Untersuchungen über die Spaltung des Amygdalins durch Bakterien verdanken wir FERMI und MONTESANO (1) sowie GÉRARD (1). Nach INGHILLERI (1) spaltet *Bacterium coli commune* Amygdalin, *Bacillus typhi abdominalis* dagegen nicht. Die Benutzung dieses Verhaltens zur Differentialdiagnose der beiden Arten wird indes schon durch den von FERMI und MONTESANO gleichzeitig erbrachten Nachweis hinfällig, daß keineswegs alle Rassen des *Bact. coli* Amygdalin zu spalten vermögen. Immerhin scheint im Darm, zufolge GÉRARD (2) und GONNERMANN (1), Amygdalin durch Bakterienwirkung (*Bact. coli*) stets gespalten zu werden, wodurch sich die Giftwirkung des durch den Mund eingebrachten Amygdalins erklärt. GONNERMANN fand übrigens den von ihm isolierten Stamm von *Bact. coli* ohne Wirkung auf Arbutin und Amygdalin, welche dagegen von zwei anderen Darmbewohnern (*Bac. subtilisimilis*, *Bac. tetaniformis*) gespalten wurden. Nach TWORT (1), der 41 verschiedene Bakterienarten auf 49 Glycoside einwirken ließ, wird manchmal das Spaltungsvermögen erst durch die Vorkultur geweckt. J. VAN DER LECK (1) fand wieder bei *Bact. coli* und einigen Verwandten (*Bac. acido-aromaticus*, *Aerobacter aerogenes*) Spaltungsvermögen gegenüber Aesculin. Sapotoxin wurde bei GONNERMANN's Versuchen durch keines der geprüften Agentien gespalten.

Die echte Hefe (*Saccharomyces*-Arten) galt bisher als unfähig, Glycoside (außer den α-Glucosiden) zu spalten bezw. Emulsin zu bilden. Amygdalin wird nach FISCHER und THIERFELDER (1) durch Hefe vermittels der Maltase nur in d-Glucose und Mandelsäurenitril-Glucosid gespalten. Indes haben HENRY und AULD (1) neuerdings gezeigt, daß auch Mandelsäurenitril-Glucosid, Salicin, Arbutin, Phaseolunatin sowohl

durch lebende Hefe wie durch Hefenpreßsaft gespalten werden, nicht aber Quercitrin, Digitalin, Sinalbin. Sie stellten auch das spaltende Enzym aus dem auf 58° C (das Optimum der Wirkung auf Amygdalin!) erhitzten Preßsaft dar. Das bestätigte GUIGNARD (3), als er fand, daß bei der Vergärung des Saftes der Sambunigrin (aber nicht Emulsin) 5 enthaltenden reifen Hollunderbeeren (*Sambucus nigra*) Blausäure auftrat. Eine aus dem Saft isolierte Hefe (anscheinend *Saccharomyces Pastorianus* HANSEN) sowie Bäckerhefe (Preßhefe) spalteten denn auch Amygdalin.

Ueber die Elektion bei gleichzeitiger Darbietung von Glycosiden und anderen Kohlenstoffquellen (Zucker) findet man auf S. 360 einige 10 Angaben. Nach INGHILLERI (1) spaltet jedoch das *Bact. coli* Amygdalin auch bei Gegenwart von Glucose. Jedenfalls wird aber, wenigstens vielfach, die Bildung der glycosidspaltenden Enzyme regulatorisch beeinflußt. Nach POTTEVIN (2) bildet z. B. auch *Aspergillus niger* wohl bei Ernährung mit Lactose Emulsin (neben Lactase), nicht aber bei Ernährung mit 15 α-Methylglucosid. Auffallend erscheint, daß auch gegenüber den früher für emulsinfrei gehaltenen Hefen nach den letzten Untersuchungen von HENRY und AULD (1) sowie GUIGNARD (3) die β-Glucoside durch Zuckergegenwart nicht gedeckt sein würden.

Wenn Glycoside von Gärungsorganismen gespalten bezw. verbraucht 20 werden, so unterliegt dem Verbrauch von den Spaltungsprodukten in erster Linie der Zucker. Der aromatische Spaltling wird, wie auf S. 251 des Vierten Bandes weiter ausgeführt wird, selten vom Pilz assimiliert, vielfach aber extracellulär weiter verändert, wohl meist oxydiert. Wo das nicht der Fall ist, kann der aromatische Spaltling sogar giftig wirken 25 und das weitere Gedeihen des Pilzes stören, ihn sogar töten. Man vergleiche auch S. 504.

Daß unser Wissen über die Glycosidspaltung durch Gärungsorganismen noch sehr lückenhaft ist, dürfte aus dem Vorhergehenden deutlich hervorgehen. Ganz abgesehen davon, daß wir über die Zersetzung anderer 30 Glycoside wie der von der d-Glucose sich ableitenden kaum etwas wissen, lassen auch unsere Kenntnisse über das Verhalten der Gärungserreger zu den Glycosiden selbst noch außerordentlich viel zu wünschen übrig. Der Forscher findet auf diesem Gebiete noch reiche Gelegenheit zu fruchtbringender experimenteller Arbeit. 35

§ 146. Indigogärung und andere Farbstoffgärungen.

Unter den technisch verwendeten Glycosidspaltungen ist nicht nur die wichtigste, sondern auch die bestbekannte die sogen. Indigo-Gärung, mittels welcher aus gewissen Arten der Leguminosen-Gattung *Indigofera* der in der Färberei unentbehrliche Farbstoff **Indigo** gewonnen wird. 40 Hat auch der durch diese Gärung gewonnene sogen. natürliche Indigo in seiner Bedeutung für den Welthandel sehr viel verloren, nachdem man seit der ersten künstlichen (synthetischen) Darstellung des Indigos durch A. VON BAEYER zahlreiche für den Fabrikbetrieb geeignete Methoden zur synthetischen Gewinnung des kostbaren Farbstoffs gefunden 45 hat, so deckt doch auch heute noch der natürliche (bengalische) Indigo den wesentlichen Teil des Weltverbrauchs.

Der Indigofarbstoff kommt in den Blättern der Indigo liefernden *Indigofera*-Arten (bes. *Ind. tinctoria*), wie in denen der anderen Indigopflanzen, keineswegs fertig gebildet vor, sondern entsteht erst aus einer 50

Muttersubstanz, dem bereits von SCHUNCK (1) als Glycosid erkannten Indican, während der und durch die sogen. Gärung. Die vor Eintritt der Blüte gemähten Pflanzen legt man, wie P. VAN ROMBURGH (1), C. J. VAN LOOKEREN-CAMPAGNE und P. J. VAN DER VEEN (1 u. 2), MOLISCH (1 u. 3) und SCHULTE IM HOFE (1) beschreiben, bei der auf Java üblichen Art der Indigobereitung in Wasser, so daß sie von diesem bedeckt werden. Die Muttersubstanz des Indigos, das Indican, das MARCHLEWSKI und RADCLIFFE (1) und HAZEWINKEL (1 u. 2) als d-Glucosid des Indoxyls

$$CH_2OH.[CH(OH)]_3.\underbrace{CH.CH}_{\diagdown O \diagup}.OC\begin{smallmatrix} \diagup CH \diagdown \\ \diagdown C_6H_4 \diagup \end{smallmatrix}NH$$

erkannten, geht dann infolge des nach MOLISCH (2) bald aus Sauerstoffmangel eintretenden Todes der *Indigofera*-Blätter ins Wasser über. Die Flüssigkeit färbt sich gelb, nimmt alkalische Reaktion an und bedeckt sich mit blauviolettem Schaum. Nach 8- bis 10-stündigem Aufenthalt im Extraktionsbassin wird die Flüssigkeit in ein anderes Bassin abgelassen, in welchem sie durch Schaufelräder, Klopfen u. dgl. m. gründlich mit dem Luftsauerstoff in Berührung gebracht wird. Während durch die „Gärung“ im Extraktionsbassin das Indican in Zucker und Indigweiß, nach jetziger Auffassung Indoxyl, zerfällt, wird im Oxydationsbassin das Indigweiß oder vielmehr Indoxyl zu Indigblau (Indigotin) oxydiert, das unlöslich ist und daher ausfällt. Es wird gesammelt, durch Waschen und Auskochen gereinigt, durch Tücher geseiht, in Würfel gepreßt und getrocknet.

Nach ALVAREZ (1), der Laboratoriumsversuche mit kleinen Mengen von *Indigofera*-Blättern anstellte, sollte bei der sogen. Gärung ein von ihm aus Aufguß von *Indigofera*-Blättern isolierter *Bacillus indigogenus* eine wesentliche Rolle spielen, der im mikroskopischen Bilde dem FRIEDLÄNDER'schen Erreger der Pneumonie (s. S. 55) ähnlich, vielleicht mit diesem identisch ist. ALVAREZ wies experimentell nach, daß der von ihm isolierte Organismus, der auf *Indigofera*-Aufgüssen eine Kahmhaut bildet, Indican unter Indigobildung zersetzt, und hält die Rolle der Bakterien bezw. seines *Bacillus indigogenus* durch die Beobachtung für bewiesen, daß in sterilen Absuden von *Indigofera*-Blättern Indigobildung nicht stattfindet. Während ALVAREZ außerdem nur wenige der von ihm geprüften Bakterien (den FRIEDLÄNDER'schen Pneumoniebazillus selbst, den Bazillus des Rhinoskleroms) fähig fand, Indigogärung in *Indigofera*-Absuden zu erregen, erwiesen sich dagegen bei MOLISCH's (2) Untersuchungen zahlreiche Bakterien und höhere Pilze (*Bacillus anthracis, Bac. prodigiosus, Cladothrix odorifera, Cl. dichotoma, Sarcina lutea, Penicillium spec., Mucor mucedo*) als dazu befähigt. Dabei schied sich das Indigblau meist außerhalb der Zellen ab, vielfach aber auch in denselben. Daß die Versuchsbedingungen von Einfluß auf das Ergebnis der Untersuchung sind, schließt MOLISCH mit Recht daraus, daß das *Bacterium coli commune*, das auf einem mit Indican aus *Polygonum tinctorium* bereiteten Agarnährboden das Indican nicht spaltete, dies sehr wohl tat, als es in einer wässerigen Abkochung des Färberknöterichs kultiviert wurde. Sehr verbreitet fand endlich BEIJERINCK (3) das Vermögen, Indican zu spalten. Nach ihm haben es alle Angehörigen seiner (biologischen) Gruppe *Aerobacter* (s. Bd. III, S. 93), gewisse Rassen des *Bacillus radicicola*, der Milchsäure-Bazillus der Brennerei- und Preßhefe-Maischen, viele Hefen und Torula-Formen und Schimmelpilze. Unter ihnen zerlegen die *Aerobacter*-Formen sowie *Saccharomyces Ludwigii* und

Monilia candida das Indican nur, so lange sie leben, nicht aber, wenn sie, auch unter Schonung ihrer Enzyme, durch Aether, Chloroform u. dgl. m. getötet worden sind. Sie spalten das Indican katabolitisch, während alle anderen durch spaltende Enzyme wirken.

In gewissem Gegensatz zu der Tatsache, daß die Fähigkeit der 5 Indicanspaltung bezw. Indigogärung sich unter den Mikroorganismen als sehr verbreitet erwiesen hat, steht die andere Tatsache, daß in demselben Grade, wie unsere Kenntnis in dieser Beziehung fortgeschritten ist, die Wahrscheinlichkeit dafür sich vermindert hat, daß Gärungsorganismen bei der Indigogärung überhaupt eine wesentliche Rolle 10 spielen. Schon C. J. van Lookeren und P. J. van der Veen (1) kamen bei ihren sehr wichtigen Untersuchungen über die technische Indigogärung auf Java zu dem Schluß, daß die Spaltung des Indicans bei dieser nicht durch Mikroorganismen, sondern durch ein in der *Indigofera* selbst vorhandenes Enzym bewirkt werde. Allerdings finden sich Unter- 15 suchungen über den Mikroorganismen-Gehalt fermentierter *Indigofera*-Extrakte in van Lookeren's Arbeit nicht, und so kann der Schluß nicht als absolut zwingend anerkannt werden, wenn auch zweifellos aus den unter Zusatz von Antisepticis angestellten Versuchen folgt, daß auch unter Ausschluß von Mikroorganismentätigkeit bei der technischen 20 Indigobereitung das Indican gespalten wird. Daß bei Ausschluß von Gärungsorganismen Indicanspaltung im Pflanzensaft eintreten kann und eintritt, folgt übrigens bereits noch unzweifelhafter aus den Untersuchungen von Molisch (1) über das Vorkommen und den Nachweis des Indicans in Pflanzen vom Jahre 1893. Daß auch bei der technischen 25 Indigogärung Mikroorganismen die ihnen von Alvarez zugeschriebene Rolle nicht spielen, zeigte Molisch (2) im Jahre 1898. Bei Versuchen im Kleinen trat auch bei Ausschluß von Mikroorganismen Indicanspaltung (und im Anschluß daran Indigobildung bei Sauerstoffzutritt) ein, wenn nur dafür gesorgt wurde, daß beim Absterben der Indigopflanzen die 30 Enzyme derselben nicht zerstört wurden, und in der Technik wendet man die größte Sorgfalt und Reinlichkeit auf, um das Eintreten von Bakteriengärungen, die nur störend auf den Gang der Fermentation wirken würden, zu verhindern. Insbesondere reinigt man die Bassins und die Klopfer nach jeder Benutzung sorgfältig mit Karbolsäure. 35 Auch die immer häufiger werdende Verwendung heißen (über 50° C warmen) Wassers zur Extraktion, wodurch der Tod der Indigopflanzen und der Austritt des Indicans beschleunigt wird, spricht entschieden gegen die Annahme einer Bakterientätigkeit bei der Indigofermentation; man müßte sonst an thermotolerante bezw. thermophile Bakterien denken. 40 Uebrigens fand Molisch Organismen in fermentierten Brühen auch nur äußerst spärlich. Beijerinck (3) bestätigte das allgemeine Vorkommen von Indican spaltenden Enzymen in Indigopflanzen, so daß auch nach seinen Untersuchungen Mikroorganismentätigkeit bei der technischen Indigogärung mindestens als überflüssig erscheinen dürfte. Bergtheil (1) 45 sowohl wie Schulte im Hofe (1) bestätigen die Rolle der pflanzeneigenen Enzyme bei der Indigobereitung. Nach Molisch (2) können Bakterien bei der Indigogewinnung allerdings eine sehr wichtige, aber höchst unerwünschte Rolle spielen. Wird die Reinlichkeit vernachlässigt, so können nämlich höchst lästige Bakteriengärungen auftreten, welche 50 das Eintreten von „Moeroeh“ (sprich: Muruh) bewirken, d. h. die Indigobildung durch anderweitige Umsetzungen verhindern.

Die Indican spaltenden Enzyme bezeichnet Beijerinck (3) mit dem

Ausdruck Indoxylasen, während Hazewinkel (1) das der *Indigofera* als Indemulsin bezeichnet. Beijerinck führt den Nachweis, daß die Indoxylasen verschiedener Indigopflanzen (*Indigofera, Phajus, Polygonum*) und Mikroorganismen (*Saccharomyces sphaericus*, eine Art aus der Gattung *Willia*) gewisse Verschiedenheiten aufweisen. Mandel-Emulsin wirkt ebenfalls, aber schwächer, spaltend auf Indican. Daß nach Bréaudat (1) bei der Oxydation des Indoxyls zu Indigo in den Oxydationsbassins Oxydasen eine Rolle spielen sollen, sei nur kurz erwähnt, zumal andere Beobachter, so Beijerinck (2) und Bergtheil (1), das nicht bestätigen konnten. Nach ersterem fehlt dem Waid (*Isatis tinctoria*) eine Oxydase, ohne daß durch diesen Mangel die Indigobildung aus Indoxyl beeinträchtigt würde.

Zweifellos sind die bei der Indigobereitung vor sich gehenden Prozesse noch keineswegs genügend geklärt, sondern bieten dem Gärungsphysiologen wie dem Chemiker noch ein reiches Arbeitsgebiet, das um so dankbarer sein dürfte, als es sich darum handelt, den tropischen Landbau im Kampf um seine Existenz zu unterstützen. Wohl bedroht die künstliche Darstellung des Indigos den *Indigofera*-Bau mit ähnlichem Untergang, wie er den Waidbau bereits getroffen hat. Indes liegen die Verhältnisse für jenen insofern nicht so ungünstig, als einmal der Anbau der Indigo liefernden *Indigofera*-Arten als stickstoffsammelnder Leguminosen (s. Bd. III, S. 24) zu Zwecken der Düngung für die tropische Landwirtschaft Bedeutung hat und noch mehr gewinnen dürfte, so daß die Gewinnung des Indigos als Nebennutzung der Gründüngungspflanze zu betrachten sein würde, und als andrerseits die Ausbeute an Indigo jedenfalls einer Erhöhung fähig ist. Man vergleiche darüber Detmer (1) und Bloxam (1). Daß der natürliche (Handels-) Indigo nichts weniger als rein ist, ist auch ein Mangel, der sich sicherlich vermindern, wenn nicht beheben läßt, wenn wir erst die Vorgänge bei der Indigogewinnung genauer kennen und verstehen werden. Als solche Verunreinigungen werden genannt: Indigrot, Indigbraun, Indigleim, Asche. Nähere (chemische) Untersuchungen über die Verunreinigungen verdanken wir Perkin und Bloxam (1) und Perkin (1, 2, 3); man vergleiche auch G. von Georgiewicz (1). Der fertige Indigo kann zwischen dem Pressen der Würfel und dem Erlangen des verkehrsfähigen Zustandes der Trockenheit noch durch Pilzvegetationen leiden; man vergleiche darüber Molisch (3) und Chr. Rawson (1).

Auch bei der Verwendung des Indigos, sowohl des natürlichen wie des künstlichen, spielen Gärungen vielfach eine Rolle, indem der Indigo durch Gärungsvorgänge reduziert und so in wässerige Lösung übergeführt wird. Manche dieser Küpen, so die Waidküpe, über welche man Wiesner (1) vergleiche, die Potaschen- und die Harnküpe, deren Bereitung und Führung man in Bancroft's klassischem Werke (1) findet, sind schon nach A. Fitz (1) echte Gärungen. Eine derselben, die Waidküpe, ist neuerdings genauer von Wendelstadt und Binz (1) studiert und als eine anaerobiotische Gärung erkannt worden. Als Träger der sie verursachenden Mikroorganismen erwies sich namentlich der Waid. Von den isolierten Organismen war eine „weiße" Hefe — allerdings nicht immer — befähigt, sterilisierte Küpen in Gang zu bringen. Das Studium der russischen Sauerteigküpe führte zu dem Ergebnis, daß auch der *Bac. levans*, ein Verwandter des *Bact. coli* (s. 25. Kap. d. II. Bds.), mehrfach imstande war, die Küpengärung durchzuführen. Ueber die Ursache fehlerhaften Gangs der Küpen, des Durchgehens und

des Schwarzwerdens der Indigoküpen, wissen wir zur Zeit noch nichts.

Schon im Vorhergehenden ist gelegentlich anderer Indigopflanzen wie der *Indigofera*-Arten Erwähnung getan worden. Unter ihnen ist die wichtigste der **Waid**, *Isatis tinctoria*, eine Crucifere, die in Deutschland 5 im Mittelalter sehr viel angebaut wurde. Heute haben sich nur kümmerliche Reste des alten, vom Wettbewerb des *Indigofera*-Indigos erdrückten Waidbaues erhalten und liefern das Material zur Anstellung der bereits oben erwähnten Waidküpe. Nach Wiesner (1) werden die Blätter zu diesem Zweck gesammelt, schnell getrocknet, gemahlen und mit Wasser 10 zu einem Teig angemacht, den man gären läßt. Nach ca. 14 Tagen wird die Masse durchgeknetet und zu runden Ballen, den sogen. Waidkugeln, geformt, die getrocknet werden und zum Ansetzen der Küpe dienen. Nach Beijerinck (1 u. 2) enthält der Waid eine nur in schwach saurer Lösung beständige Indoxylverbindung, Isatan, die durch ein in 15 allen Teilen der Waidpflanze vorhandenes Enzym, Isatase, nicht aber durch Indoxylase oder Mikroorganismen, sowie durch starke Säuren und Alkalien gespalten wird. Die Isatase ist in Wasser oder anderen Lösungsmitteln unlöslich und wirkt nicht auf Indican; man vergleiche auch Marchlewski (1). Welche Prozesse bei der Gärung des Blattbreies vor sich 20 gehen, ist gänzlich unbekannt. Zweifellos handelt es sich dabei nicht allein um eine Zersetzung des Isatans durch Isatase und eine Oxydation des freigewordenen Indoxyls zu Indigo.

In ähnlicher Weise bereitet man nach der Schilderung Rein's (1) in China, Japan und Korea aus den Indican und Indoxylase enthaltenden 25 Blättern des Färberknöterichs, *Polygonum tinctorium*, durch einen sehr langen und viel Sorgfalt erheischenden Gärungsprozeß Indigo.

Ein Verzeichnis der bekannten Indigopflanzen hat neuerdings Molisch (3) geliefert. Scharf von den Indigopflanzen zu trennen sind die von Molisch (1, 2, 4) als „Pseudoindican" führend bezeichneten 30 Pflanzen, in denen bei langsamem Absterben unter Bedingungen, unter denen Enzyme wirksam bleiben und wirken, bei Nekrobiose nach Beijerinck (2), blaue, aber von Indigo verschiedene Farbstoffe entstehen. Auch bei ihnen handelt es sich wohl meist um Spaltungsprodukte chromogener Glycoside, wie Greshoff (1) sich ausdrückt. 35

Ein ähnliches Schicksal, wie der Waid es gehabt hat, und wie es der *Indigofera* vielleicht bevorsteht, hat auch den **Krapp** getroffen, dessen Anbau seit dem Gelingen des billigen synthetischen Aufbaues seines Farbstoffs, des Alizarins, fast vollständig vernichtet ist. Als Krapp (Färberröte) bezeichnet man im Handel die getrocknete Wurzel 40 mehrerer *Rubia*-Arten, in erster Linie der *Rubia tinctorum*, aber auch der *R. peregrina* und *R. Munjista*. Die Farbstoffe des Krapps sind einige Anthrachinon-Derivate, unter denen das Alizarin die wesentliche Rolle spielt. Schon Jennek (1), Decaisne (1), Schiel (1) und Higgin (1) erkannten, daß der Farbstoff größtenteils nicht frei, sondern in glyco- 45 sidischer Bindung in der lebenden Wurzel vorhanden ist. Aus dem Glycosid wird durch Gärung der Farbstoff frei. Rochleder (1) und Schunck (2) stellten ziemlich gleichzeitig das Alizaringlycosid, von ihnen Ruberythrinsäure bezw. Rubian genannt, dar. Schunck führte die Spaltung des Rubians auf ein in der Krappwurzel enthaltenes Enzym, 50 Erythrozym (s. Bd. IV, S. 381), zurück, das in Wasser unlöslich sein, in demselben jedoch suspendiert bleiben soll. Dieses Enzym soll außerdem nach Schunck aus dem vorhandenen und frei werdenden Zucker Alkohol,

Kohlensäure und Bernsteinsäure bilden, wobei allerdings ein Uebersehen von Gärungsorganismen unterlaufen sein dürfte. Inwieweit solche an der Spaltung der nativen Farbstoffglycoside des Krapps Anteil haben, ist noch nicht untersucht. Es ist um so weniger ausgeschlossen, als 5 man bei der Herstellung von Krappfarbstoffpräparaten den Aufgüssen vielfach Hefe zufügt, die allerdings die Ruberythrinsäure nicht spalten soll. Außer der Ruberythrinsäure, die in zwei Moleküle Zucker und ein Molekül Alizarin (Orthodioxyanthrachinon) nach der Gleichung

$$C_{26}H_{28}O_{14} + 2H_2O = 2C_6H_{12}O_6 + C_{14}H_8O_4$$

10 zerfällt, enthält der Krapp Glycoside des Purpurins, eines Trioxyanthrachinons, des Purpuroxanthins (Metadioxyanthrachinon) und der Purpuroxanthincarbonsäure (im ostindischen Krapp, *Rubia Munjista* und *R. sikkimensis*, als Munjistin), des Methylpurpuroxanthins (als Rubiadin) usw. Eine Zusammenstellung gibt CZAPEK (1). Welches Polysaccharid 15 mit Alizarin zusammen die Ruberythrinsäure bildet, ist noch unsicher. Emulsin soll das Glycosid schwächer spalten als Erythrozym (Rubiase). Man vergleiche ferner RUSSEL (2).

Daß der gelbe Farbstoff Rhamnetin aus dem Xanthorhamnin in Gelbbeeren durch enzymatische Spaltung entsteht, ist bereits auf S. 644 20 mitgeteilt worden. Mikroorganismen können dabei, wie vielleicht auch bei der Gewinnung des Glycosid-Farbstoffs Quercitrin (Rhamnosid) aus der Rinde von *Quercus infectoria*, nur eine störende Rolle spielen, indem sie den Farbstoff zersetzen. Ueber die zahlreichen Farbstoffe der Beeren von *Rhamnus cathartica* und ihrer Muttersubstanzen vergleiche man 25 TSCHIRCH und POLACCO (1).

Nichts Sicheres ist bekannt über Gärungen bei der Bereitung der grünen Farbe Lo-kao aus der Rinde von *Rhamnus utilis* und *Rh. chlorophora* in China. Nach R. KAYSER (1) ist die färbende Lokaonsäure ein Glycosid der d-Glucose.

30 Glycosidspaltung spielt auch jedenfalls eine Rolle bei der Herstellung des gelben Farbstoffs (Butin) aus den hellorangegelben Blüten der ostindischen Leguminose *Butea frondosa*, in denen es nach PERKIN und HUMMEL (1) als Glycosid vorgebildet ist. Ueberhaupt sind viele pflanzliche Farbstoffe (Gossypium-Glycosid, Apiin, Datiscin usw.) Glycoside 35 oder Spaltungsprodukte solcher. Man vergleiche darüber J. J. VAN RIJN (1) und CZAPEK (1).

Im Anschluß und anhangsweise sei kurz auf die Gewinnung des Farbstoffs Orlean (Annatto) eingegangen, obgleich seine Entstehung aus einem Glycosid keineswegs feststeht, nicht einmal wahrscheinlich ist. 40 Nach P. VAN ROMBURGH (1) werden die Fruchtkapseln der *Bixa orellana* L. zerdrückt, mit Wasser übergossen und einer einige Wochen dauernden Gärung überlassen. Die Flüssigkeit wird durch ein Sieb gegossen und eingedampft, worauf sich der Farbstoff absetzt. Durch Lösen in Sodalösung und Ausfällen mit Säure soll sich indes aus den frischen Früchten 45 ein besseres Produkt gewinnen lassen. Ueber den Farbstoff der *Bixa orellana* vergleiche man MARCHLEWSKI und MATEJKO (1).

§ 147. Gärungen von Genußmitteln und Gewürzen.

Als Typus der hierher gehörigen Gärungen wählen wir die sogen. **Senfgärung.** Als Rohmaterial für die Senfbereitung dienen bekanntlich 50 die Samen des schwarzen und weißen Senfes (*Brassica nigra* und *Sinapis*

alba und *S. juncea*), die zerquetscht und dann mit Essig unter Zusatz von Gewürzen, Salz u. dergl. m. der Gärung überlassen werden. Bei der Bereitung des französischen Senfes gerät während dieser Gärung nach A. Kossowicz (2) die Masse in wallende Bewegung und bedeckt sich mit einem weißen Schaum. Danach ist es sehr wahrscheinlich, daß, wenigstens während der ersten Bereitungsstadien, eine wahre, von Mikroorganismen hervorgerufene Gärung stattfindet. In der Tat fand Kossowicz im Gegensatz zu Marpmann (1) in der Senfmaische eine reiche Pilzflora, von der nur wenige Vertreter die ersten Stadien der Gärung überleben. Insbesondere erweisen sich Schimmel- und Sproßpilze als sehr empfindlich gegenüber dem entstehenden Senföl, während andrerseits die Essigsäure auf das Wachstum der Spaltpilze hemmend wirken dürfte. Wesentlich für die Senfbereitung ist indessen jedenfalls in erster Linie die Spaltung der Glycoside der Senfsamen, des Kaliummyronats (Sinigrins) der schwarzen und des Sinalbins der weißen Senfsamen. Dabei spielen indes Gärungsorganismen jedenfalls keine Rolle. Kossowicz (1), der die Versuche Brunstein's (1) über Zersetzung von Sinigrin durch Schimmelpilze mit Recht nicht für beweisend erachtet, erhielt selbst mit Schimmelpilzen (***Penicillium glaucum*** und ***Monilia candida***) eine unzweideutige Spaltung nicht und fand auch eine große Anzahl von Bakterien, soweit er solche prüfte, unfähig zu (wenigstens einigermaßen merklicher) Spaltung des Sinigrins. Nicht einmal als Kohlenstoff- bezw. Stickstoffquelle vermochte das Glycosid den Bakterien zu dienen. Daß Bierhefe nicht imstande ist, aus Sinigrin Senföl abzuspalten, hatte schon Bussy (1) festgestellt. Damit soll nicht in Abrede gestellt werden, daß es Gärungsorganismen gibt, welche zur Spaltung des Sinigrins befähigt sind. Bisher sind solche indes nicht gefunden worden, und wir haben daher keinen Grund, neben dem in den Senfsamen bereits vorhandenen, gegenüber Sinigrin und Sinalbin wirksamen, aber nach Hartwich und Vuillemin (1) auf sinigrinfreie Zellen beschränkten Enzym Myrosin weitere Zersetzungserreger anzunehmen. Durch Emulsin werden Sinigrin und Sinalbin nicht zerlegt. Nach Gadamer (1) zerfällt Sinigrin bezw. Sinalbin unter dem Einfluß von Myrosin, das zufolge Guignard (2) außer in Senfsamen auch in vielen anderen Pflanzen vorkommt, in Glucose, Allylsenföl und Kaliumbisulfat bezw. in Glucose, Sinalbinsenföl und Sinapinbisulfat:

I: $C_{10}H_{16}NS_2KO_9 + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_3H_5CNS + KHSO_4$

II: $C_{30}H_{42}N_2S_2O_{15} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_7H_7O \cdot CNS + C_{16}H_{24}NO_5 \cdot HSO_4$.

Für die antiseptische Wirkung des stark riechenden Allylsenföls liefert Kossowicz (1 u. 2) zahlreiche Belege. Sinigrin neben Myrosin enthält, wie im Vorbeigehen bemerkt sein mag, auch die Wurzel von *Cochlearia armoracia*, weshalb auch sie als antiseptisch wirkendes Gewürz beim Einmachen benutzt wird.

Eine Ausnahme bezüglich der Empfindlichkeit gegen Senföl machen nach Kossowicz (2) zwei Endosporen bildende Stäbchenbakterien, *Bacillus sinapivorax* und *Bac. sinapivagus*, die auch noch aus gut verschlossenen Senftiegeln nach längerer Aufbewahrung gezüchtet werden konnten. Ersterer, der in gekochtem Senfinfus Gasbildung und sehr intensiven, an Knoblauch erinnernden unangenehmen Geruch hervorrief, erzeugte auch in französischem Senf Gasbildung und rief einen eigentümlichen tranig-ranzigen Geschmack sowie Trennung der festen und flüssigen Bestandteile hervor. Der *Bacillus sinapivagus* verfärbte den Senf, beschleunigte ebenfalls seine Entmischung und verschlechterte Geruch und Geschmack. Beide erwiesen sich also als ausgesprochene

Schädlinge, deren Aufkommen durch tunlichste Förderung der Glycosidzersetzung und Senfölbildung in den Anfangsstadien des Bereitungsverfahrens entgegenzuarbeiten ist. Zu diesem Zweck ist der Senf mit ganz schwachem Essig anzusetzen, da stärkerer Säuregehalt die Myrosin-5 wirkung hemmt, und erst nachträglich (nach 6—12 Stunden) mit starkem Essig zu versetzen.

Senföl liefernde, dem Sinigrin analog konstituierte Glycoside sind ferner bekannt: in den Samen von *Brassica napus* — dasselbe liefert nach SJOLLEMA (1) Crotonylsenföl bei der Spaltung —, in *Cochlearia* 10 *officinalis*, Butylsenföl liefernd nach GADAMER (2), in *Nasturtium officinale* und *Barbaraea praecox*, welche nach GADAMER (3) Glyconasturtiin enthalten, aus dem Phenylaethylsenföl abgespalten wird, wie auch, nach BERTRAM und WALBAUM (1), in der Resedawurzel, die also ebenfalls Glyconasturtiin enthalten dürfte, in *Tropaeolum majus* und *Lepidium sativum* die nach GADA-15 MER (3) das Benzylsenföl abspaltende Glycotropaeolin führen, dessen Existenz BEIJERINCK (4) allerdings leugnet. Diese und andere bei Spaltung Senföl liefernde Glycoside sind deshalb nicht unwichtig, weil bei der Verfütterung von Futter, das solche Glycoside führende Pflanzenteile (Leinkuchen mit Unkrautsamen, Rapskuchen usw.) enthielt, vielfach höchst un-20 erwünschte Folgen beobachtet worden sind. Ob das Freiwerden des giftigen Senföls in solchen Fällen auf Pilzwirkung zurückzuführen ist, bleibt ungewiß. Man vergleiche darüber auch das 21. Kapitel des Zweiten Bandes.

Ist beim Senf es sicher, daß das Wesen der Gärung in einer Gly-25 cosidzersetzung besteht, so ist das um so zweifelhafter für die hier anzuschließenden Bereitungsarten von Kakao, Cola, Kaffee, Tee und Vanille.

Der rohe **Kakao** ist bekanntlich zum Genuß wegen seines unangenehmen bitteren Geschmacks ungeeignet und wird erst durch eine 30 Fermentation für einen europäischen Gaumen genießbar. Die Fermentation, deren äußerer Hergang u. a. von TSCHIRCH (1), PREYER (1) und P. VAN ROMBURGH (1) eingehend geschildert und bereits auf S. 605 erwähnt worden ist, macht den Kakao mild und aromatisch, beeinflußt die Färbung der Schale und des Innern (Rotfärbung) und lockert die den 35 Samen einhüllende Schleimschicht. Das Wesen der Fermentation (des „Rottens") besteht darin, daß man die Bohnen in Haufen oder Gruben bei tunlichstem Luftabschluß gären läßt, wobei die Temperatur der Haufen entsprechend steigt. Dabei entsteht nach P. VAN ROMBURGH unter reichlicher Kohlensäureentwicklung Alkohol. Nach Abschluß des 40 Rottens werden die Bohnen von den erweichten Fruchtfleischresten durch Waschen befreit. Nach PREYER's Darstellung treten vielfach unerwünschte Nebengärungen (Milchsäure-, Buttersäuregärung) ein, sehr zum Schaden des Produktes. Er hat in rottenden Haufen reichlich Hefen im Fruchtfleisch der Bohnen gefunden und eine von ihm isolierte Art, 45 welche zahlreiche Sporen in jeder zum Ascus werdenden Zelle bildete, als *Saccharomyces Theobromae* näher beschrieben sowie zur Anstellung von Kakao-Rottungen empfohlen. Schon SCHIMPER (1) hatte das Vorkommen von Hefensporen auf der Schale als untrügliches Merkmal zur Unterscheidung gerotteter Bohnen von ungerotteten empfohlen. Schwere 50 Störungen bei der Kakaofermentation können hervorgerufen werden, wenn faulende mit Pilzen behaftete Früchte nicht sorgfältig ausgelesen und den Fermentationshaufen fern gehalten werden. Besonders die von BUSSE (3) entdeckte *Phytophthora*, welche die Braunfäule der Kakaofrüchte

hervorruft, scheint nach seiner Mitteilung (4) die Kakaorotte ähnlich zu stören, wie bei uns die Fäulnispilze der süßen Früchte usw. die alkoholische Gärung des Bieres und Weines. Es hat nun zunächst LAZARUS (1) angegeben, daß in den frischen Bohnen, die weiß sind, das in den gerotteten Bohnen stets vorhandene Kakaorot, verbunden mit Zucker und 5 den beiden „Alkaloiden" des Kakao, Coffein und Theobromin, als Glycosid (Cacaonin) präexistiere, das bei der Fermentation durch ein im Samen vorhandenes Enzym gespalten werde. SCHWEITZER (1) bestätigte das. Danach hätte man sich die Fermentation des Kakao vielleicht so vorzustellen, daß durch die Gärungsprodukte der Hefe die Bohnen ge- 10 tötet und dadurch ihre sämtlichen Zellen dem Enzym zugänglich würden.

Aehnlich würde man nach den Angaben von SCHWEITZER (1) sich auch die Rolle der **Fermentation** bei den **Colanüssen** vorzustellen haben. Auch hier würde unter dem Einfluß eines Enzyms das Colanin in Colarot, Zucker und die Alkaloide zerfallen. Damit knüpft SCHWEITZER an 15 Untersuchungen KNEBEL's (1) an, nach denen der rote Farbstoff der Colanuß aus einem Gemisch des in Colarot, Coffein und Glucose spaltbaren Glycosids Colanin und des Colarots bestehen soll. Nach KNOX und PRESCOTT (1) wäre allerdings die Glycosidnatur des „Colanins" mehr als zweifelhaft, und damit würden natürlich auch Bedenken gegen die 20 Glycosidnatur des Cacaonins gegeben sein. Auch FRANÇOIS (1) hält die Glycosidnatur des Colanins für mehr als zweifelhaft. Dagegen kommen CHEVROTIER und VIGNE (1) wieder zu Ergebnissen, welche recht gut mit den Angaben SCHWEITZER's stimmen, während GORIS (1) das Colarot künstlich durch Oxydation eines aus frischen Colanüssen erhaltenen 25 kristallinischen Phenols Colatin, $C_8H_{10}O_4$, darstellte. Ueber die Fermentation der Colanüsse macht GRUNER (1) einige Mitteilungen. Ueber ein fettspaltendes Enzym in Colanüssen berichtet MASTBAUM (1).

Bei der **Kaffee-Fermentation** handelt es sich, wie auf S. 605 bereits bemerkt worden ist, ebenfalls um eine alkoholische Gärung, deren Produkt 30 PIQUE (1) ausnutzen will. Ob die von KÜHL (1) in verschiedenen Kaffeesorten gesehenen Kugel- und Stäbchenbakterien, Spirillen und Spirochaeten (!) eine Rolle bei der Fermentation spielen, bedarf jedenfalls einer Prüfung und ist recht unwahrscheinlich. Welche Veränderungen die Fermentation in der Bohne hervorruft, ist unbekannt. Der Glycosid- 35 charakter der Kaffeegerbsäure der Kaffeebohne wird von GRAF (1) neuerdings angezweifelt.

Auch der **Tee** erlangt seine Handelsfähigkeit erst durch eigenartige Gärungen. Nach P. VAN ROMBURGH (1), TSCHIRCH (1) u. a. läßt man zur Bereitung des sogen. schwarzen Tees die nachmittags ge- 40 pflückten Teeblätter (*Thea assamica* und *Th. chinensis*) über Nacht welken und bringt sie dann in die Rollmaschine oder rollt sie mit der Hand auf sogen. Rolltischen 20—30 Minuten zu kleinen zylindrischen Ballen, die nach dem Absieben in den Fermentierungskästen oder auf Hürden in nicht zu dünner Schicht ausgebreitet und zum Schutz gegen Aus- 45 trocknen, wenn nötig, mit einem feuchten Tuche bedeckt werden. So machen sie die einige Stunden dauernde Fermentation durch, bei der die Temperatur nur wenig höher steigen darf, als die Außentemperatur der Luft beträgt. Während der Fermentation erleidet der Tee eine Farbenveränderung. Sobald die richtige rotbraune Färbung erreicht 50 ist, was in einigen Stunden der Fall ist, wandert der Tee dann i- die Trockenmaschinen. Der grüne Tee wird ganz anders ber Man läßt die Blätter wenig oder gar nicht abwelken, so

bringt sie in grünem Zustande in flache eiserne Pfannen, von denen die erste bis nahezu zum Glühen, die beiden anderen weniger hoch erhitzt sind. Die Blätter passieren die drei Pfannen nacheinander, zuerst die heißeste, unter stetem Umrühren, bis sie ganz weich und klebrig geworden sind. Die „gebratenen", durch die Hitze getöteten Blätter, in denen natürlich auch etwa vorhandene Enzyme unwirksam geworden sind, werden dann abgekühlt, gerollt und endlich fermentiert, wobei sie indes nicht rot werden. Daß die Fermentation des grünen Tees nicht auf der Tätigkeit von Organismen beruhen kann, ist wohl ohne weiteres klar. Dagegen hat Wahgel (1) aus schwarzem chinesischen Tee eine Hefe und aus billigeren Sorten daneben Bakterien, aus kaukasischem Tee nur Bakterien gezüchtet, indem er den Tee schwach anfeuchtete und dann 3—5 Tage bei 27—30 ° C hielt. Er erachtet die Hefe für die Urheberin des feinen Teearomas, die Bakterien für Schädlinge der Fermentation und verspricht sich eine Hebung der Qualität von Impfungen des Ceylon- und kaukasischen Tees mit der Hefe des chinesischen Tees. Nach Nanninga (1—5) verbindet sich während des Rollens und Fermentierens die Gerbsäure mit den Eiweißstoffen des Protoplasmas. Mit der Dauer der Fermentation nimmt die Menge der freien ätherlöslichen Gerbsäure ab, die Menge der weder in Chloroform noch in Aether, Essigäther, Alkohol oder Wasser löslichen Bestandteile der Blätter zu. Der Wasserextrakt steigt zunächst, um bei noch längerer Dauer der Fermentation wieder zu fallen. Auch in durch schnelles Trocknen über Kalk bei gewöhnlicher Temperatur getöteten und dann zerriebenen Blättern traten bei nachherigem Wasserzusatz neben Teeduft und Braunfärbung auch die eben aufgeführten chemischen Veränderungen der Blattsubstanz auf, nicht aber, wenn das Tee-Enzym durch — auch nur kurzes — Erhitzen auf 70—80 ° unwirksam gemacht worden war. Während in frischen und ohne Zersetzung getrockneten Blättern sich ein kalihaltiges Glycosid fand, wurde ein solches im schwarzen Tee nicht mehr angetroffen. Wie ein Versuch lehrte, entsteht das Aroma des Tees mit größter Wahrscheinlichkeit aus diesem Glycosid unter der Einwirkung eines im Blatt vorhandenen Enzyms. Eine Oxydase dürfte im Gegensatz zu den Angaben von Aso (1) und Aso und Pozzi-Escot (1) bei der Teefermentation eine Rolle nicht spielen, da Oxydasen nach Raciborski im Teeblatt fehlen sollen. Später hat aber auch Nanninga (4 u. 5) Peroxydase in Teeblättern gefunden und schreibt ihr eine Rolle bei der Oxydation des Gerbstoffs zu; man vergleiche darüber das 27. Kapitel. In welchem Verhältnis das Glycosid der Teeblätter zu den von Boorsma (1) in Teesamen gefundenen saponinartigen Glycosiden steht, ist unbekannt. An flüchtigen Bestandteilen fand P. van Romburgh (2) in fermentiertem Tee Methylalkohol, Aceton, Methylsalicylat und einen höher siedenden Alkohol, der teeartig roch. Während Wahgel's Auffassung der Teefermentation schon wegen der kurzen Dauer der Fermentation einer großen inneren Unwahrscheinlichkeit begegnet, stimmt die von Nanninga begründete Anschauung, nach der es sich wesentlich um eine enzymatische Glycosidspaltung handelt, recht gut mit den bekannten Tatsachen.

Wenn die Frucht der **Vanille** erntereif ist, so zeigt sie, wie alle Berichte über Bau und Erntebereitung der Vanille übereinstimmend melden, nicht eine Spur des charakteristischen Vanillingeruchs, der die Handelsware auszeichnet und bis zu einem gewissen Grade ihren Wert bedingt. Bei der Erntebereitung wird das Vanillin erst aus einer vorgebildeten Muttersubstanz frei. Eine ausgezeichnete Zusammenstellung

der verschiedenen Arten der *Vanillebereitung* verdanken wir Busse (1), der in seiner Monographie alles Wissenswerte über Geschichte, Systematik, Kultur, Erntebereitung, Sorten, Anatomie und Chemie der Vanillefrucht sorgfältig gesammelt hat. Busse unterscheidet hinsichtlich der Weiterbehandlung der in gelbem Zustande zu erntenden Kapseln das mexikanische, trockene Verfahren von dem nassen. Bei ersterem setzt man die Früchte, in wollene Tücher gehüllt, über Tag der Sonne oder künstlicher Wärme im Backofen aus: man läßt sie „schwitzen". Die Wärme des Backofens soll 60° C nicht übersteigen. Läßt man an der Sonne schwitzen, so verpackt man die Früchte, in Decken gehüllt, die Nacht über in Kisten u. dergl. Man läßt schwitzen, bis Aroma und dunkle (schwarze) Färbung entwickelt sind, was unter Umständen, bei Benutzung der Sonnenwärme, Wochen dauern kann. Beim nassen Verfahren taucht man die frischen Früchte, in Bündel vereinigt, einige Sekunden in siedendes Wasser, wodurch die Epidermis getötet wird. Dann werden die Früchte an der Luft sofort getrocknet und, nachdem sie äußerlich trocken geworden sind, dem Schwitzprozeß an der Sonne oder in künstlicher Wärme ausgesetzt. Derselbe dauert in diesem Falle nur wenige Tage. Während das Vanillin beim Schwitzprozeß frei wird, schießt es in den Kristallen, welche die Handelsware bedecken, erst später während des Nachtrocknens an. Daß der Schwitzprozeß eine Art Gärung ist, welche das Vanillin frei macht, geht klar aus dem Vorhergehenden hervor. Busse, der annahm, daß beim Heißwasserverfahren die Früchte sehr hoch erhitzt würden, hielt damit die bereits früher von Tiemann und Haarmann (1) geäußerte Ansicht, es handle sich um Abspaltung von Vanillin aus einem Glycosid, für unvereinbar, weil Enzyme durch die Erhitzung unwirksam gemacht sein müßten. Demgegenüber wies Behrens (2) darauf hin, daß bei der kurzen Dauer der Heißwasserbehandlung ein Eindringen der Hitze ins Innere der Vanillefrüchte kaum anzunehmen sei, und schuf in dem Nachweis, daß Blattsaft von *Vanilla planifolia* beim Erhitzen mit verdünnten Säuren Vanillingeruch annimmt, eine neue Stütze für die Ansicht von Tiemann und Haarmann. Busse (2) vermochte denn auch kurz darauf den Nachweis zu führen, daß in unreifen Vanillefrüchten (*Vanilla pompona*) eine Substanz vorkommt, welche unter der Einwirkung sowohl von Säuren als auch von Emulsin einen nach Vanillin riechenden Körper abspaltet. Dagegen nimmt Lecomte (1), gestützt auf den Nachweis einer Oxydase neben Emulsin in den verschiedenen Teilen der Vanillepflanze, an, das Vanillin entstehe aus vorgebildetem Coniferin, das zunächst durch das Emulsin in Zucker und Coniferylalkohol gespalten, und dessen aromatischer Spaltling dann durch die Oxydase zu Vanillin oxydiert werde (entsprechend etwa dem alten Verfahren zur Darstellung künstlichen Vanillins aus Cambialsaft der Coniferen). Die Präexistenz des Vanillins als Glycosid ist übrigens um so wahrscheinlicher, als O. de Rawton (1) das von Haarmann und Reimer (1) zuerst künstlich durch Oxydation aus Coniferin dargestellte Vanillinglucosid bereits in der Frucht und Wurzel von *Avena sativa* gefunden hat. Gärungsorganismen spielen jedenfalls bei dem Schwitzen der Vanille eine Rolle nicht. Dagegen kann nach Busse (1) das fertige Produkt bei ungenügender Trocknung von Schimmelpilzen (*Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*) befallen und verdorben werden. Als Schädlinge der Präparation bezeichnet Gomolla (1) einen „weißen" und einen (besonders gefährlichen) „schwarzen Schimmel", denen man durch größte Reinlichkeit, Desinfektion der Räume und Geräte mit Chinosol und Entfernen der

befallenen Früchte entgegentreten muß. Ueber die weite Verbreitung des Vanillins bezw. vanillinbildender Substanzen im Pflanzenreich vergleiche man Czapek (1). Die Oxydation des Vanillins durch pilzliche Oxydasen wird im folgenden Kapitel zu erwähnen sein, in welchem wir übrigens noch kurz auf die Bereitung der meisten von den hier behandelten Genußmitteln zurückzukommen haben.

§ 148. Entstehung von Riechstoffen durch Glycosidspaltung.

Schon im vorhergehenden Paragraphen ist wiederholt bereits die Entstehung von Riechstoffen durch Glycosidspaltungen berührt worden, so z. B. die Senfgärung, die Vanillebereitung usw. Aehnliche Vorgänge sind sehr weit verbreitet.

Insbesondere dürfte die Abspaltung von riechenden Stoffen aus Glycosiden vielfach bei der Bereitung alkoholischer Getränke insofern eine Rolle spielen, als solche Riechstoffe beim Zustandekommen des sogen. Bouquet (s. Bd. IV, S. 394) mitwirken. Sicher ist das der Fall bei den durch Destillation aus dem vergorenen Saft verschiedener süßer Früchte von Angehörigen der Gattung *Prunus* gewonnenen Branntweinen, dem Kirschen-, Zwetschen-, Mirabellenbranntwein, dem Maraschino usw., deren Bereitung und Zusammensetzung von K. Windisch (1) unter Benutzung der vorhandenen Literatur eingehend geschildert worden ist. Bei der Vergärung der Fruchtmaischen wird auch das in den Samen der Amygdaleen und in Spuren auch im Fruchtfleisch selbst enthaltene Amygdalin gespalten, so daß dessen nicht vergärbare Spaltungsprodukte in die Gärflüssigkeit gelangen. In den Samen, die durch die Gärung des Fruchtfleischsaftes wohl meist getötet werden, geschieht die Spaltung sicher durch das in den Samen enthaltene Emulsin. Die Spaltungsprodukte werden aus ihnen, soweit sie von der Steinschale umschlossen sind, nur zum kleinsten Teil in die Flüssigkeit diffundieren. Dagegen werden für die Spaltung des im Fruchtfleisch vorhandenen Amygdalins, das bezw. dessen Spaltungsprodukte Windisch (2) zum Nachweis der Verfälschung von Rotwein mit Kirschensaft zu benutzen vorschlägt, vielleicht die Gärungsorganismen der Maische verantwortlich zu machen sein, zumal außer der nach S. 646 zur Amygdalinzerlegung befähigten Hefe nach Kayser und Dienert (1) auch Milchsäurebakterien bei dieser eine wesentliche Rolle spielen sollen, die wohl nicht minder zur Spaltung von Amygdalin befähigt sein dürften. Jedenfalls spielen im Aroma aller Amygdaleen-Branntweine die aus der Maische mit übergehenden Spaltungsprodukte des Amygdalins, Benzaldehyd und Blausäure, eine wesentliche Rolle, können allerdings schädlich werden, wenn durch Zertrümmerung der Steinkerne Gelegenheit zu übermäßiger Anreicherung der Flüssigkeit mit ihnen gegeben wurde. Man vergleiche auch Bd. IV, S. 395.

Nur im Vorbeigehen sei des aus den Wurzelstöcken verschiedener Enzianarten (besonders *Gentiana lutea* L.) in den Alpen durch Gärung und Destillation gewonnenen Enzianbranntweins gedacht, der einen eigenartigen Geruch hat. Neben Kohlenhydraten (Zuckern), unter denen das von A. Meyer (1) entdeckte Trisaccharid Gentianose (vergl. Bd. IV, S. 249 u. 425) besonders hervorgehoben sei, enthält die Enzianwurzel nach Tanret (1) eine Anzahl von Glycosiden, wie Gentiopikrin, Gentia-

marin, Gentisin u. a., von denen das eine oder andere vielleicht auch zur Aromabildung nach geschehener Spaltung beiträgt.

Sehr verbreitet ist, wie neuere Untersuchungen von TRAPHAGEN und BURKE (1), WINDISCH (4), UTZ (1), MASTBAUM (2), JABLIN-GONNET (1), DESMOULIÈRES (1 u. 2), DESMOULIÈRES und PORTES (1) und GRIMALDI (1) gezeigt haben, in süßen Früchten (Beerenobst, Steinobst) das Vorkommen von Salicylsäure. Vielfach ist es wenigstens höchst wahrscheinlich, wenn auch nicht durchaus sicher, daß die Salicylsäure nicht als solche sondern als Methylester vorliegt, und es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch die freie Salicylsäure erst durch Vermittelung eines fettspaltenden Enzyms, einer Lipase, aus dem Salicylsäuremethylester entstanden ist. Das andere Spaltungsprodukt, der Methylalkohol, ist denn auch von WOLFF (1) in dem vergorenen Saft verschiedener Früchte und einigen Branntweinen aufgefunden worden und entsteht vorwiegend während der Gärung; man vergleiche darüber Bd. IV, S. 395.

Es ist nun nicht unwahrscheinlich, daß das sehr angenehm riechende Methylsalicylat, dort wo es vorkommt, beim Zustandekommen des Aromas mitwirkt. Schon GRIMALDI (1) hält die Entstehung des Esters bezw. seiner Spaltungsprodukte aus einem Glycosid für wahrscheinlich. Ein Glycosid des Methylsalicylats, das Gaultherin ($C_{14}H_{18}O_8$), ist denn auch im Pflanzenreich ungemein verbreitet. P. VAN ROMBURGH (3) fand es in nicht weniger als 18 Proz. der von ihm untersuchten (900) Pflanzenarten, und zwar in Vertretern der verschiedensten Familien, und diese Zahl ist inzwischen durch verschiedene Untersuchungen noch wesentlich vermehrt worden. Es sei diesbezüglich auf die Zusammenstellung bei CZAPEK (1) wie auch auf die Berichte von SCHIMMEL & Co. (1) verwiesen.

Technisch wird das natürliche Methylsalicylat ($C_6H_4 . OH . CO . O . CH_3$), das Wintergrünöl, aus der nordamerikanischen Ericacee *Gaultheria procumbens* L. und aus der ebenfalls nordamerikanischen *Betula lenta* L. gewonnen. Hier wie in zahllosen anderen Fällen ist es nicht als solches vorhanden, sondern in Verbindung mit Glucose als Gaultherin (Betulin) und wird beim Welken, Zerkleinern der Pflanzen, überhaupt beim Absterben unter Bedingungen, welche Enzyme nicht vernichten bezw. unwirksam machen (Nekrobiose), durch das Enzym Gaultherase (Betulase) abgespalten, entsprechend der Gleichung

$$C_{14}H_{18}O_8 + H_2O = C_8H_8O_3 + C_6H_{12}O_6.$$

Von SCHNEEGANS und GEROCK (1) wurde die Gaultherase in *Betula*, von BOURQUELOT (2) in *Betula*, *Gaultheria* und anderen gaultherinhaltigen Pflanzen nachgewiesen. BEIJERINCK (4) sowie spätere Untersucher bestätigten die regelmäßige Vergesellschaftung des Gaultherins mit Gaultherase, welche, von Emulsin verschieden, auf Salicin und Amygdalin ohne Einwirkung ist. Ob Gärungsorganismen Gaultherin zerlegen, ist bisher nicht geprüft.

Möglicherweise ist Salicylsäuremethylester auch bei der Aromabildung mancher Weine beteiligt. Wenigstens liegen von WINDISCH (3) gesammelte Angaben über Salicylsäuregehalt von angeblichen Naturweinen vor, die von TRAPHAGEN und BURKE (1), DESMOULIÈRES (1), GRIMALDI (1) bestätigt wurden, während WOLFF (1) den von TRILLAT (1) bereits in Tresterbranntwein gefundenen Methylalkohol in Traubenweinen nachwies. Die Frage bedarf natürlich weiterer Prüfung. Hier sei auch daran erinnert, daß nach JACQUEMIN (1) in den Blättern der Obst- u. Rebensorten glycosidartige Verbindungen enthalten sind, aus denen

der Gärung die für die betreffenden Sorten charakteristischen Bouquetstoffe (s. Bd. IV, S. 394) abgespalten werden. JACQUEMIN setzt daher den Weinen eingedickte Auszüge aus Traubenblättern zu, um ihr Bouquet zu verbessern. MATHIEU (1) bestätigte die Angaben JACQUEMIN's, 5 während WINDISCH (5) angibt, daß in den zu seiner Kenntnis gelangten Fällen ein Erfolg des Zusatzes von „Glycosid“ nicht zu beobachten war. Ich selbst konnte bei der Vergärung künstlicher Zuckerlösungen unter reichlichem Zusatz von einem aus Rebblättern (Riesling) nach den üblichen Methoden dargestellten Rohglycosidpräparat Bouquet- 10 bildung ebenfalls nicht beobachten. Man vergleiche übrigens auch die Darlegungen im Fünften Abschnitte des Fünften Bandes. In Ergänzung der auf S. 393 des Vierten Bandes gemachten Angaben über die Entstehung der an dem Bouquet sicher beteiligten höheren Alkohole (Fuselöle) sei angefügt, daß nach EHRLICH's (1) und PRINGSHEIM's (1) weiteren Unter- 15 suchungen die Fuselöle von der wachsenden Hefe aus Aminosäuren unter Verbrauch des abgespaltenen Ammoniaks nach der allgemeinen Formel gebildet werden:

$$R.CH(NH_2).COOH + H_2O = CO_2 + NH_3 + R.CH_2OH,$$

worin R ein Alkylrest ist (H, CH_3, C_2H_5 usw.). So entsteht aus Tyrosin 20 der Oxyphenyläthylalkohol, aus Phenylalanin der Phenyläthylalkohol, aus Phenylaminoessigsäure der Benzylalkohol usw.

Daß M. BARTH (1) irrte, der den Knoblauchgeruch minderwertigen Hopfens auf Glycosid-(Sinigrin-)Spaltung zurückführen wollte, hat C. VON WAHL (1) durch den Nachweis gezeigt, daß Hopfen weder 25 Sinigrin, sei es durch eigenes Myrosin oder durch Mikroorganismentätigkeit, zu spalten vermag, noch auch Sinigrin oder überhaupt ein Senföl-Glycosid enthält. Letzteres bestätigten REMY (1) und NEUMANN (1).

Postmortal, infolge Nekrobiose, entsteht nach BOURQUELOT und HÉRISSEY (4) das aromatische Eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) aus dem Eugenol- 30 Glycosid Gein als Produkt der Spaltung durch das gleichzeitig in der Wurzel des *Geum urbanum* vorhandene Enzym Gease, nach GORIS und DUCHER (1) der Primulakampfer aus einem in der Wurzel von *Primula officinalis* präexistierendem Körper durch ein nicht mit Emulsin identisches Enzym. Daß auch das Cumarin in den Cumarinpflanzen durch 35 enzymatische Spaltung postmortal aus einem Glycosid entsteht, haben BEHRENS (2) und MOLISCH (5) wahrscheinlich gemacht, allerdings nur für *Ageratum mexicanum* SIMS. und *Peristrophe angustifolia* NEES., denen sich die Labiate *Melittis melissophyllum* L. nach meinen Beobachtungen anschließt. BEIJERINCK (2) gibt diese Entstehung für den Waldmeister 40 (*Asperula odorata*) an. Für die Rohmaterialien des natürlichen Cumarins (Tonkabohnen: Samen der südamerikanischen Leguminose *Cumaruna odorata* AUBL., Blätter nordamerikanischer *Liatris*-Arten) würde der Nachweis noch zu führen sein. Für die Tonkabohne ist Entstehung des Cumarins durch eine Art Gärung nicht unwahrscheinlich. Nach VOGL (1) 45 nimmt auch die sogen. Veilchenwurzel, das Rhizom verschiedener bei Florenz gebauter *Iris*-Arten (*Iris germanica*, *I. florentina*, *I. pallida*), das frisch einen widrigen Geruch hat, erst während der Präparation (Einlegen in Wasser, Schälen und Trocknen) den lieblichen veilchenartigen Geruch der Handelsware an. Auch hier scheint also der den 50 Geruch bedingende Körper, das Keton Iron, erst sekundär aus einer unbekannten Muttersubstanz zu entstehen; ob aus einem Glycosid, ist allerdings um so fraglicher, als das aromatische Spaltungsprodukt des

bekannten Glycosids der Iriswurzel, des Iridins, eine nähere Beziehung zum Iron vermissen läßt.

Zum Schluß sei darauf hingewiesen, daß nach A. HESSE (1) bei der Bereitung des Tuberosenblütenöls durch Enfleurage (Auflegen der frischen Blüten auf Fett, das nachher destilliert wird) die Oelausbeute eine weit größere ist als bei direkter Extraktion. Auch fand HESSE im Enfleurage-Oel Methylsalicylat, das im direkt extrahierten Oel fehlte. Auch hier scheint also Glycosidspaltung eine Rolle zu spielen. Aehnlich ist es nach HESSE (2) beim Jasminblütenöl; nicht nur die Ausbeute ist bei der Enfleurage größer, sondern auch die chemische Zusammensetzung des Enfleurage-Oels ist eine andere als die des durch Extraktion oder direkte Destillation gewonnenen Oels. Ersteres enthält neben Anthranilsäuremethylester Indol, letzteres nicht. HESSE nimmt an, daß die vermehrte Bildung von Riechstoffen bei der Enfleurage auf enzymatische Spaltung von Glycosiden zurückzuführen sei. Damit lassen sich auch die hohe Ausbeute an extrahiertem Oel und der Indolgehalt desselben wohl in Einklang bringen, die SODEN (1) beobachtete. SODEN braucht nur ältere Blüten verwendet zu haben, dann wäre beides erklärt. Möglicherweise spielen bei der Riechstoffbildung die von VINTILESCO (1) in verschiedenen Arten von *Jasminum* entdeckten Glycoside Syringin und Jasmiflorin eine Rolle; das aromatische Spaltungsprodukt des ersteren liefert bei Oxydation den vanillinartig riechenden Syringaldehyd.

Pilze, überhaupt Mikroorganismen, dürften übrigens bei den zuletzt aufgeführten Einzelfällen nur eine schädliche Rolle spielen. Im übrigen handelt es sich um postmortale, nekrobiotische Vorgänge, bei der Wirkung der Enfleurage vielleicht sogar um Lebensprozesse.

§ 149. Glycosidische Gerbstoffe. Rolle der Glycosidspaltung in der Pharmakologie und Toxikologie.

Soweit wir heute unterrichtet sind, besitzen zwar keineswegs alle, aber doch immerhin viele Gerbstoffe Glycosidcharakter; man vergleiche darüber die Zusammenstellung von KUNZ-KRAUSE (1). Allerdings ist gerade für denjenigen Körper, den man als Typus der Gerbstoffe zu betrachten gewohnt ist, für das Tannin, die Glycosidstruktur mehr als in Frage gestellt. Unter Tannin verstehen wir den technisch außerordentlich vielseitig verwendeten Gerbstoff der Galläpfel von *Quercus lusitanica* LAM. (= *Qu. infectoria* OLIV.), dessen Molekularstruktur heute noch keineswegs sicher feststeht. Hatten WALDEN (1) und andere auf Grund der Molekulargewichtsbestimmung und der optischen Aktivität des Tannins die früher herrschende Ansicht, daß das Tannin nichts anderes als Digallussäure sei, ins Wanken gebracht und die Möglichkeit eröffnet, daß in der Tat doch ein Glycosid vorliege, so haben neuerdings NIERENSTEIN (1) und DEKKER (1) wieder beachtenswerte Stützen für die Auffassung des Tannins als Digallussäure geliefert. Indessen kann die Frage um so weniger als gelöst gelten, als nicht nur POTTEVIN (1) aus seinen Untersuchungen den Schluß zieht, daß die Galläpfel[illegible] [illegible]n Glycosid, und zwar der Digallussäure, sei, sondern a[illegible] im Handelstannin neben Gallussäure ein eigentlich[illegible] kulargewicht 1310 ($C_{54}H_{50}O_{33}$) fand, und THOM[illegible] Zucker durch Hydrolyse mit Säure aus Tannin THOMS (2) durch fraktionierte Fällung mit A[illegible]

stoff des Belladonna-Extraktes in Fraktionen verschiedenen Drehungsvermögens zerlegen konnte, ist allerdings kein sicherer Beweis, wohl aber doch eine Stütze für die Betrachtung des Galläpfeltannins als Gemenge.

5 Bei dieser Lage der Dinge dürfen wir wohl die Spaltung des Tannins durch den *Aspergillus niger* bezw. durch das von diesem gebildete Enzym, das auf S. 252 des Vierten Bandes kurz behandelt ist, ohne Bedenken an dieser Stelle anführen. Den dort gegebenen Literaturnachweisen sei angefügt, daß nach KUNZ-KRAUSE (2) aus dem von ihm durch Kapillar-10 analyse im Tannin gefundenen Octylgallyltannoid ($C_{54}H_{50}O_{35}$) durch Schimmelpilze Gallussäure zurückgebildet wird. Noch ehe VAN TIEGHEM die Rolle der Schimmelpilze bei der Herstellung der Gallussäure aus Galläpfeln kennen lehrte, suchte man nach WITTSTEIN (1) schon die „Gärung" durch Bierhefenzugabe zu fördern, welche wohl durch schnelle 15 Vergärung des vorhandenen Zuckers, also durch Entfernung eines das Tannin deckenden Nährstoffs, den Angriff auf das Tannin beschleunigt. Daß die von SCHEELE im Jahre 1786 in faulenden Galläpfeln entdeckte Gallussäure nicht als solche präexistiert, hat schon PELOUZE (1) erkannt. Eine neue Untersuchung der Tanninspaltung verdanken wir MANEA (1), 20 der den Nachweis liefert, daß synthetisch dargestellte Digallussäure durch *Penicillium glaucum* oder *Aspergillus niger* überhaupt nicht gespalten wird, daß also der durch diese Pilze spaltbare Gerbstoff der Galläpfel nicht Digallussäure sein kann. Letztere wirkt in größeren Konzentrationen direkt antiseptisch gegenüber den Pilzen. Ja, MANEA gründet auf das 25 verschiedene Verhalten jener Pilze gegen Digallussäure und gegen Galläpfelgerbsäure, die durch die Pilze verbraucht wird, eine Methode, erstere neben letzterer quantitativ zu bestimmen. POTTEVIN's Ansicht über die Konstitution des Tannins kann daher nicht richtig sein. MANEA betrachtet das Tannin, zurückkehrend zu STRECKER's Ansicht aus dem Jahre 1851, 30 als Glycosid der Gallussäure. Für die Gallussäuregärung des Tannins empfiehlt er die Verwendung des *Aspergillus niger* in Reinkultur nach vorherigem Sterilisieren der (RAULIN'schen) Nährlösung, die schwach angesäuert sein soll. Je schneller die Gärung erfolgt, um so reicher ist die Ausbeute.

35 Weil die Tinte ursprünglich wesentlich aus einer Suspension von galläpfelgerbsaurem Eisen in Wasser bestand, schließen wir das wenige an, was wir über tintenverderbende Organismen wissen. In schleimigen Tinten wird man im allgemeinen Schimmelpilze finden (*Aspergillus* oder *Penicillium*). HÉRY (1) hat aber auch einen kapsel-40 bildenden Bazillus als Verursacher des Schleimigwerdens von Tinten, insbesondere von Campecheholztinten, gefunden. Ueber die Zersetzungen, welche die Tintenbewohner an den einzelnen Bestandteilen der Tinten (Gerbsäure, Hämatoxylin, Zucker, Schleim usw.) sicherlich hervorrufen, ist nichts bekannt. Als Vorbeugungsmittel empfiehlt HÉRY Zusatz einer 45 genügenden Dosis Salicylsäure (5 g pro Liter).

Da eine große Anzahl natürlich vorkommender und technisch verwendeter Gerbstoffe zweifellos glycosidischer Natur sind, so spielen in den auf S. 27 des Fünften Bandes behandelten Lohbrühen gewiß manchmal auch Glycosidspaltungen eine Rolle, wenn auch Näheres dar-50 über nicht bekannt ist. Damit stimmen auch die Ergebnisse der Studien von A. und L. LUMIÈRE und SEYEWETZ (1) einerseits und FAHRION (1) andrerseits über das Wesen der Lederbildung überein: Danach bildet sich Leder durch Vereinigung der Hautfaser mit dem Oxydationsprodukt

eines Phenols, also nur in Gegenwart von Sauerstoff, außer wo bereits ein fertiges Oxydationsprodukt vorliegt, z. B. das Chinon. Der einfachste Typus eines glycosidischen Gerbstoffs würde danach das Hydrochinonglucosid, Arbutin, sein, das durch alle Emulsin bildenden Pilze (vergl. auch Bd. IV, S. 250) in das bei Sauerstoffgegenwart gerbende Hydrochinon und in Zucker gespalten wird. Gerbstoffe glycosidischer Natur enthalten sicher oder doch ziemlich sicher folgende technisch verwendeten Gerbmaterialien: Eichenrinde, Erlenholz, Algarobila, Myrobalanen. Nach H. G. Smith (1) besteht das Eucalyptus-Kino (sogen. Eucalyptus-Gummi) großenteils, in einigen Sorten fast ganz aus einem Diglucosid, Emphloin, dessen aromatisches Spaltungsprodukt erst für Gerbereizwecke nutzbar ist. Nierenstein (2) gibt an, daß die wesentlich aus Ellagsäure bestehende „Blume", welche bei Verwendung gewisser Pyrogallolgerbstoffe (Myrobalanen) auf der Oberfläche des Leders sich bildet, wahrscheinlich durch Zerfall eines Ellagsäureglycosids zu erklären ist. Allerdings soll nach Alpers (1) auch der Gerbstoff in Blättern von *Carpinus betulus* leicht unter Abspaltung von Ellagsäure zerfallen, ohne selbst ein Glycosid zu sein.

Zum Schluß werfen wir noch rasch einen Blick auf die Rolle, welche Glycosidzersetzungen in der Toxikologie und Pharmakologie spielen können, über welche aber bis jetzt recht wenig bekannt ist. Schon auf S. 646 ist kurz erwähnt worden, daß das Amygdalin, dem sich, soweit wir wissen, die anderen blausäureliefernden Glycoside anschließen, an sich ungiftig ist und erst infolge Abspaltung der überaus giftigen Blausäure vom Darm aus giftig wirkt. Die Abspaltung kann durch mit amygdalinhaltiger Nahrung eingeführtes Emulsin oder, zufolge Gonnermann (1), durch Darmbakterien geschehen. Aehnlich verhalten sich jedenfalls die Gifte von *Lotus arabicus* (Lotusin), *Phaseolus lunatus* (Phaseolunatin), *Andropogon Sorghum* (Durrhin), deren cyanbildende Glycoside von Dunstan und Henry (1) untersucht worden sind. *Andropogon* verliert schon bei der Heuwerbung, jedenfalls durch die beim Trocknen eintretende enzymatische Spaltung des Durrhins mit nachfolgender Verflüchtigung der Blausäure, ihre Gefährlichkeit für das Vieh. Zusammenstellungen des Vorkommens von Blausäure in Pflanzen, die allerdings inzwischen bereits wieder der Ergänzung bedürftig geworden sind, verdanken wir Greshoff (2), der auch vier cyanhaltige Pilze aufzählt. Nach Power und Lees (1) ist auch das cyanbildende Glycosid Gynokardin der *Gynocardia*-Samen ungiftig.

Typische Schulbeispiele für Entstehung von Giften durch Glycosidspaltung liefert die von Brunstein und Nikitinsky beobachtete Selbstvergiftung von Pilzen, welche auf glycosidhaltigen Nährlösungen wachsen. Man vergleiche darüber S. 504 und Bd. IV, S. 251. So starben die Pilze, wenigstens zum Teil, an Selbstvergiftung durch die gebildeten aromatischen Spaltungsprodukte in Brunstein's Versuchen auf Helicin-, Salicin- und Arbutin-Lösung. Auf der Bildung von Pilzgiften durch Glycosidspaltung beruht wohl auch die Verwendung von Senfölglycoside enthaltenden Gewürzen, wie Kapuzinerkresse, weißem Senf, Meerrettich, beim Einmachen von Sauerkraut, Gurken und anderen Gemüsekonserven: Es soll dadurch die Kahmhautbildung verhindert werden; man vergleiche darüber Bd. II, S. 319 u. 325. Beijerinck (4), der darauf aufmerksam machte, wirft sogar die Frage auf, ob nicht eine weitere Funktion mancher Glycoside darin bestehe, daß sie bezw. ihre Spaltungsprodukte pilzliche Parasiten fern halten. Von verschiedenen Spaltungsprodukten von Glycosiden fanden K. Kobert (1) und Brüning (1) neuerdings gegen-

über Milchsäurebakterien in Milch schwach antiseptisch wirksam Wintergrünöl (und Cumarin), mittelstark Eugenol, Löffelkrautöl (und Jasminöl), stark Bittermandelöl, Kirschlorbeeröl und Senföl. Auch die Verwendung der Sauerkirschblätter als Gewürz beim Einmachen beruht wohl zum Teil auf der antiseptischen Wirkung des entstehenden Bittermandelöls, während Blausäure nach BOKORNY (1) allerdings nur schwach wirkt.

Waren in den vorhergehenden Fällen die Glycoside unwirksam, und kam die toxische oder anderweitige Wirkung erst dem Spaltungsprodukt zu (vergl. auch Kirschlorbeerwasser, Aqua amygdalarum amararum des Arzneibuchs), so sind auch die beiden anderen Möglichkeiten verwirklicht: Die Glycoside der Oxyanthrachinone und die letzteren selbst wirken arzneilich ganz gleich (Aloe, Rhabarber, Cortex frangulae, Cascara sagrada, Sennesblätter). Auf der anderen Seite scheinen nach R. KOBERT (1) mehrere Saponinsubstanzen und die Ergotinsäure im Darm unter Bildung von Zucker und nicht-giftigen Spaltlingen zerlegt und so entgiftet zu werden. Nach KUNKEL (1) werden auf diese Weise im Darm Quillajasäure (aus der Rinde von *Quillaja saponaria*) und die Saponine der Sarsaparille-Wurzel (*Smilax*-Arten), die, intravenös gegeben, giftig sind, entgiftet. Dasselbe gilt vom Cyclamin. Auch die nicht mehr glycosidischen Spaltungsprodukte der *Digitalis*-Glycoside, wenigstens des Digitalins, Digitaligenin und Zucker, sind nach KILIANI (1) unwirksam. Nach BRISSEMONT und JOANNE (1) beobachtete KOSMANN bereits im Jahre 1875 Spaltung von *Digitalis*-Glycosiden durch ein aus den Blättern hergestelltes Enzympräparat. Da er indes nicht antiseptisch arbeitete, vielmehr in seinen Versuchsflüssigkeiten „Algen" (Pilze) auftraten, liegt die Möglichkeit eines Irrtums bezw. einer Spaltung durch Pilztätigkeit vor, wenn auch BOURQUELOT (1) den *Aspergillus niger* zur Spaltung des Digitalins unfähig fand. Nach WANG (1) nimmt mit steigendem Alter der Digitalisblätter die Wirksamkeit ab, außer wenn sie außergewöhnlich trocken aufbewahrt werden. Letzeres scheint auf die Beteiligung eines blatteigenen Enzyms, wahrscheinlich eines spaltenden, oder von Pilzen an der Zersetzung der *Digitalis*-Glycoside hinzuweisen. Nach TANRET (1) liegt die Gefahr vor, daß bei nicht genügend vorsichtigem Trocknen die medizinisch wirksamen Glycoside der offizinellen Enzianwurzeln zersetzt werden. Er empfiehlt daher, die Extrakte aus frischen, nicht, wie üblich, aus getrockneten Wurzeln herzustellen. SELIGMANN (1) erkannte das wirksame Prinzip des Ipoh (Kenyah-Pfeilgift) des Upasbaumes als ein Glycosid, dessen Spaltungsprodukte durchaus ungiftig waren. Voraussichtlich dürfte auch der von R. KOBERT (2) entdeckte, in Wasser unlösliche Paarling des Zuckers im giftigen Glycosid (Corchorin) der Samen von *Corchorus capsularis* ungiftig sein.

Soweit sich in Drogen, Tinkturen, Extrakten u. dergl., welche als wirksame Bestandteile derartige Glycoside enthalten, spaltende Pilze oder Bakterien entwickeln, wird die Wirksamkeit zerstört, wie denn überhaupt vielfach die in Extrakten sich entwickelnden Organismen die wirksamen Stoffe zersetzen dürften. Die Zerstörung des Arbutins in „Folia Myrtillorum" durch Pilze verschiedener Art schildert SENFT (1). Vielfach werden die sterilen untergetaucht flottierenden Mycelien (sogen. Hygrocoris), die sich in pharmazeutischen Lösungen vielfach einfinden, und aus denen bei Kulturversuchen PLANCHON's (1) *Penicillium* erwuchs, solche Zersetzungen hervorrufen. Aus zähe (schleimig) gewordenem Infus von Digitalisblättern haben BRÄUTIGAM (1), RITSERT (1) und HAPP (1) Bakterien gezüchtet: einen *Micrococcus gelatinogenus* BR., ein *Bacterium gum-*

mosum Rt. und einen *Bacillus gummosus* Hp. Einen *Micrococcus gummosus* fand Happ im Infus der Radix senegae (*Polygala senega*). Börsch (1) sah Vermehrung einer eingeimpften *Sarcina* in verschiedenen Infusen (Digitalis, Radix Liquiritiae usw.). Ob diese Infusbewohner eine Einwirkung auf die Digitalisglycoside bezw. die wirksamen Bestandteile ausüben, ist nicht untersucht worden.

Literatur

zum Kapitel Glycosidspaltungen.

***Abel,** J. J., und **Ford,** W. W., (1) Journ. of biol. Chem., 1907, Bd. 2, S. 273. ***Alpers,** K., (1) Arch. der Pharm., 1906, Bd. 244, S. 575. ***Alvarez,** E., (1) Comptes rend. de l'Ac.. 1887, Bd. 105, S. 286. ***Aso,** K., (1) Bull. of the Coll. of Agric., Tokio, 1901, Bd. 4, S. 255. ***Aso,** K., und **Pozzi-Escot,** E., (1) Revue gén. de Chimie pure et appliquée, 1902, Bd. 5, S. 419. ***Auld,** S. J. M., (1) Proc. Chem. Soc., 1907, Bd. 23, S. 72. ***Bancroft,** (1) Untersuchungen ü. d. Natur d. beständigen Farben. Deutsch von Buchner, Knurrer u. Dingler. Nürnberg 1817—1818. ***Barger,** Gg., und **Carr,** Fr. H., (1) Proc. Chem. Soc., 1907, Bd. 23, S. 27; Journ. Chem. Soc. London, 1907, Bd. 91, S. 1907. ***Barth,** M., (1) Elsäss. Hopfenztg., 1897, Nr. 17; W. f. Brauerei, 1897, Bd. 14, S. 646. ***Behrens,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 514. — (2) Der Tropenpflanzer, 1899, Bd. 3, S. 299. ***Beijerinck,** M. W., (1) On the formation of Indigo from the woad (Isatis tinctoria). Kon. Akad. van Wetensch. te Amsterdam, Proc. of the meeting Sept. 30th 1899, S. 120. — (2) Further researches on the formation etc. Ebenda, June 30th 1900, S. 101. — (3) On indigo fermentation. Ebenda, March 31th 1900, S. 495. — (4) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt.. 1899, Bd. 5, S. 425. ***Bergtheil,** C., (1) Journ. Chem. Soc. London. 1904, Bd. 85, S. 870. ***Bertram,** J., und **Walbaum,** H., (1) J. f. prakt. Chem., 1894, Bd. 50, S. 555. ***Bloxam,** W. P., (1) Journ. Soc. chemical Industry, 1906, Bd. 25, S. 735. ***Börsch,** K., (1) Beitrag z. Kenntnis d. Bakterien d. Weines. Erlangener Dissert., 1893. ***Bokorny,** Th., (1) Ref. in Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1907, Bd. 18, S. 724. ***Boorsma,** W. G, (1) Nederl. Tijdschr. v. Pharm. Chem., Toxic., 1891; cit. n. J. J. van Rijn (1). ***Bourquelot,** E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1893, Bd. 117, S. 383; Bull. Soc. Mycologique, 1894, Bd. 10, S. 49. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 122, S. 1002. — (3) Ebenda, 1901, Bd. 133, S. 690; Arch. der Pharmacie, 1907, Bd. 225, S. 164 u. 172. ***Bourquelot,** E., und **Hérissey,** H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 121, S. 693. — (2) Comptes rendus de la Soc. de Biologie, 1903, Bd. 55, S. 219. — (3) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1905, 6. sér., Bd. 18, S. 151. — (4) Comptes rend. de l'Ac., 1905, Bd. 140, S. 870. — (5) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1907, 6. sér., Bd. 25, S. 417. ***Brachin,** A., (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1904, 6. sér., Bd. 20, S. 300. ***Bräutigam,** W, (1) Pharm. Centralhalle, 1891, Bd. 32, S. 349 u. 427. ***Bréaudat,** L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1898, Bd. 127, S. 769; 1899, Bd. 128, S. 1478. ***Brissemont,** und **Joanne,** (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1898, 6. sér., Bd. 8, S. 481. ***Brüning,** (1) Cit. n. K. Kobert (1). ***Brunstein,** A., (1) Beihefte z. Bot. Centralbl., 1901, Bd. 10, S. 1. ***Buller,** R. H. A., (1) Annals of Botany, 1906, Bd. 20, S. 49. ***Busse,** Walter, (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1899, Bd. 15, S. 1. — (2) Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, 1900, Bd. 3, S. 21. — (3) Der Tropenpflanzer, 1905, Bd. 9, S. 25. — (4) Ebenda, Beihefte, 1906, Bd. 10, S. 163. ***Bussy,** (1) Cit. n. Kossowicz (1). ***Champenois,** G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1901. Bd. 133, S. 885. ***Chevrotier,** J., und **Vigne,** P., (1) Bull. général de Thérapie, 1907, Bd. 153, S. 173. ***Czapek,** Fr., (1) Biochemie der Pflanzen, Bd. 2, Jena 1905. ***Danjou,** Em., (1) Archiv der Pharmacie, 1907, Bd. 245, S. 200. ***Decaisne,** (1) J. f. prakt. Chem., 1838, Bd. 15, S. 393. ***Dekker,** J., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1906, Bd. 39, S. 2497 u. 3784. ***Desmoulières,** A., (1) Bull. Sciences pharmacol., 1902, Bd. 4, S. 204. — (2) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1904, 6. sér., Bd. 19, S. 121. ***Desmoulières,** A., und **Portes,** L., (1) Ann. de Chimie
1901, Bd. 6, S. 401. ***Detmer,** W., (1) Bot. und landw. Studien auf Java.
***Dragendorff** und **Podwissowski,** (1) Arch. f. exper. Pathol., Bd. 6,
Husemann und Hilger (1). ***Dunstan,** W. R., und **Henry,** T. A., (1)
London, 1901, Bd. 68, S. 374; 1903, Bd. 72, S. 285; Chemical News, 19
***Ehrlich,** F., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1906, Bd. 39, S. 40
S. 1027. ***Emmerling,** O., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1901,
***Fahrion,** W., (1) Zeitschrift f. angew. Chemie, 1903, Bd. 16, S. 665;
S. 286. ***Fermi,** Claudio, und **Montesano,** G., (1) Centralbl.
Bd. 15, S. 723. ***Fischer,** Emil, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges.
S. 2400 u. 2928; 1895, Bd. 28, S. 1145 u. 1167. — (2) Ebenda, 1895,
— (3) Z. f. physiolog. Chem., 1898, Bd. 26, S. 60. ***Fischer,** Emil,

1906, Bd. 13, S. 463. ***Graf, F.**, (1) Z. f. angew. Chemie, 1901, S. 1077. ***Green,** (1) An
of Botany, 1893, Bd. 7, S. 99. ***Greshoff, M.**, (1) Ber. d. Deutsch. Pharmac. Ges., 1
Bd. 9, S. 214. — (2) Arch. der Pharm., 1906, Bd. 244, S. 397; Pharm. Weekblad, 1
Bd. 43, S. 1030; cit. n. Chem. Centralbl., 1907, Bd. I. S. 125. ***Grimaldi, S.**, (1) S
sperim. agrar. ital., 1905, Bd. 38, S. 618. ***Gruner,** (1) Der Tropenpflanzer, 1904, B
S. 551. ***Guignard,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1890, Bd. 110, S. 477; 1893, Bd.
S. 493 u. 751. — (2) Journal de Botanique, 1893, Bd. 7, Nr. 19—24; 1894, Bd. 8, S
— (3) Bull. Soc. Pharmacol., 1906, Bd. 13, S. 75. ***Haarmann** und **Reimer,** (1) Ch
Ztg., 1885, Bd. 8, S. 1233. ***Happ,** C., (1) Bakteriol. u. chem. Unters. ü. d. schlein
Gärung. Dissert., Basel 1893. ***Hartwich,** C., und **Vuillemin, A.**, (1) Apotheker-Z
1905, Bd. 20, S. 162. ***Hazewinkel,** J. J., (1) Maandelijksch. Bull. van het Proefsta
voor Indigo, Klaten (Java), Afl. 1, 1900; ref. in Bot. Centralbl., 1900, Bd. 84, S.
— (2) Chem.-Ztg., 1900, Bd. 24, S. 409. ***Heeren, Fr.**, (1) Schweiggers Journal, 1
Bd. 59, S. 313 u. 479. ***Henri,** V., und **Lalou,** S., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1
Bd. 136, S. 1693. ***Henry,** Th. A., und **Auld,** S. J. M. (1) Proc. Roy. Soc. Lon
1905, Ser. B., Bd. 76, S. 568. ***Hérissey,** H., (1) Bull. Soc. Mycologique de Fra
1899, Bd. 15, S. 44. — (2) Recherches sur l'émulsine. Thèse. Paris 1899. ***Héry,**
(1) Ann. de micrLogr., 1891, Bd. 4, S. 13. ***Hesse, A.**, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. G
1903, Bd. 36, S. 1459. — (2) Ebenda, 1904, Bd. 37, S. 1457. ***Hesse, O.**, (1) Ber
Deutsch. Chem. Ges., 1904, Bd. 37, S. 4693. ***Heut,** G., (1) Archiv der Pharm
1901, Bd. 239, S. 581. ***Higgin,** (1) J. f. prakt. Chem., 1849, Bd. 46, S. 1. ***H**
mann und **Hilger,** (1) Pflanzenstoffe. Bd. 1, Berlin 1882. ***Inghilleri,** (1) Centr
f. Bakt., 1894, Bd. 15, S. 821. ***Jablin-Gonnet,** (1) Ann. de Chimie analytique, 1
Bd. 8, S. 371. ***Jacquemin,** G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 125, S.
1899, Bd. 128, S. 369. ***Jennek,** (1) Poggendorffs Ann., 1828, Bd. 13, S. 261. ***Johann**
W., (1) Ann. des sciences nat., Botanique, 1888, 7. sér., Bd. 6, S. 118. ***Juillard,**
(1) Bull. Soc. Chimique de Paris, 1904, 3. sér., Bd. 31, S. 610. ***Kayser,** E..
Dienert, F., (1) Ann. de la Science Agronomique, 1905, 2. sér., Bd. 10, S.
***Kayser, R.**, (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1885, Bd. 18, S. 3417. ***Kiliani,** (1) A
der Pharmacie, 1892, Bd. 30, S. 250. ***Klebs,** G., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1898, Bd. 32, S
— (2) Ebenda, 1899, Bd. 33, S. 71. ***Knebel,** E., (1) Die Bestandteile der Kola
Dissert., Erlangen 1892. ***Knox** und **Prescott,** (1) Journ. Americ. Chem. Soc., Bd.
S. 63; Bd. 20, S. 34; ref. in Chem. Centralbl., 1897, Bd. I, S. 931. ***Kobert, K.**
In: Schimmel & Co., Leipzig, Bericht, Oktober 1906, S. 157. ***Kobert, R.**, (1) L
buch d. Intoxikationen. 2. Aufl., Bd. 1, Stuttgart 1902. — (2) Ref. in Chem. Centr
1907, Bd. I, S. 1273. ***Kohnstamm,** Ph., (1) Beihefte z. Bot. Centralbl., 1901, Bd.
S. 90. ***Kossowicz,** Alexander, (1) Zeitschrift f. d. landw. Versuchswesen in Oe
reich, 1905, Bd. 8, S. 645. — (2) Ebenda, 1906, Bd. 9, S. 111. ***Kühl, H.**, (1) Ph
Ztg., 1906, Bd. 51, S. 1126. ***Kunkel,** (1) Handbuch der Toxikologie. Jena 1
***Kunz-Krause,** H., (1) Fragmente zu einer Monographie d. Tannoide. Pharm. Cen
halle, 1898. — (2) Cit. n. Chem.-Ztg., 1904, Bd. 28, S. 942. ***Ladenburg,** (1) H
wörterbuch der Chemie, 1882, Bd. 1, S. 688. ***Laurent,** J., (1) Journ. de Pharm. e
Chimie, 1907, 6. sér., Bd. 25, S. 225. ***Lazarus,** W., (1) Ref. in Bot. Centralbl., 1
Bd. 56, S. 296. ***Lecomte,** H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1901, Bd. 133, S.
***Lewin,** L., (1) Lehrbuch der Toxikologie. 2. Aufl., Wien u. Leipzig 1897. ***van Looke**

***Mathieu,** L., (1) Revue de viticulture, 1899, Bd. 11, S. 405. ***Meyer,** Arthur, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1882, Bd. 6, S. 135. ***Molisch,** H., (1) Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, Math.-Naturwissensch. Kl., 1893, Bd. 102, Abt. I, S. 269. — (2) Ebenda, 1898, Bd. 107, Abt. I, S. 747. — (3) In: Wiesner, Rohstoffe, 2. Aufl., Bd. 1, Leipzig 1900, S. 423. — (4) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1901, Bd. 19, S. 149. — (5) Ebenda, 1901, Bd. 19, S. 530. ***Morgenstern,** F. **von,** (1) Landw. Versuchsstationen, 1907, Bd. 65, S. 301. ***Nanninga,** W., (1) Verslag omtrent den staat van S'Lands Plantentuin te Buitenzorg over het jaar 1899. Batavia 1900, S. 127. — (2) Desgl. pro 1900, Batavia 1901, S. 221. — (3) Desgl. pro 1901, Batavia 1902, S. 227. — (4) Desgl. pro 1902, Batavia 1903, S. 114. — (5) Desgl. pro 1903, Batavia 1904, S. 161. ***Neumann,** O., (1) W. f. Brauerei, 1903, Bd. 20, S. 358. ***Nierenstein,** M., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1905, Bd. 38, S. 3641; 1907, Bd. 40, S. 916. — (2) Ledermarkt. Collegium, 1905, S. 21; cit. n. Chem.-Ztg., Repert., 1905, S. 92. ***Pelouze,** (1) Ann. de chim. et de phys., 1833, Bd. 54, S. 337. ***Perkin,** A. G., (1) Proc. Chemical Soc., 1906, Bd. 22, S. 199. — (2) Ebenda, 1907, Bd. 23, S. 30. — (3) Journ. Chemical Soc., 1907, Bd. 91, S. 435. ***Perkin,** A. Gg., und **Bloxam,** W. P., (1) Proc. Chemical Soc., 1907, Bd. 23, S. 30. ***Perkin,** A. Gg., und **Hummel,** J. J., (1) Journ. Chemical Soc. London, 1904, Bd. 85, S. 1459. ***Pique,** R., (1) Bull. de l'Assoc. des Chim. de Sucr. et Dist., 1907, Bd. 24, S. 1210. ***Planchon,** L., (1) Journ. de Pharm. et de Chim., 1898, 6. sér., Bd. 7, S. 537. ***Pottevin,** H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1901, Bd. 132, S. 1214. — (2) Ann. Pasteur, 1903, Bd. 17, S. 31; Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 136, S. 169. ***Power,** Fr. B., und **Lees,** Fr. H., (1) Proc. Chemical Soc., 1905, Bd. 21, S. 345. ***Preyer,** A., (1) Der Tropenpflanzer, 1901, Bd. 5, S. 157. ***Pringsheim,** H., (1) Biochem. Zeitschrift, 1907, Bd. 3, S. 121. ***Rawson,** Chr., (1) Journ. Soc. Dyers and Colour., 1904, Bd. 20, S. 34; ref. in Chem.-Ztg., 1904, Repert., S. 61. ***Rawton,** Ol. **de,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 125, S. 797. ***Rein,** J., (1) Cit. n. Molisch (2). ***Remy,** (1) W. f. Brauerei, 1902, Bd. 19, S. 614. ***van Rijn,** J. J., (1) Die Glykoside. Berlin 1900. ***Ritsert,** E., (1) Pharm. Ztg., 1891, Bd. 36, S. 715 u. 774. ***Rochleder,** (1) Liebigs Ann., 1851, Bd. 80, S. 321; 1852, Bd. 82, S. 205. ***van Romburgh,** P., (1) Der bot. Garten S'Lands Plantentuin zu Buitenzorg auf Java. Leipzig 1893, S. 373. — (2) Verslag omtrent den staat van S'Lands Plantentuin over het Jaar 1895. Batavia 1896, S. 119; pro 1896, Batavia, 1897, S. 166. — (3) Annales du jardin botanique de Buitenzorg, 1898, Bd. 16, S. 1. ***Roncernay,** P., (1) Contributions à l'étude des lichens à orseille. Paris 1904. ***Rouge,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1907, Bd. 18, S. 403. ***Russel,** W., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 139, S. 1230. — (2) Revue générale de Botanique, 1905, Bd. 18, S. 254. ***Schiel,** (1) Cit. n. Ladenburg (1). ***Schimmel & Co.,** Leipzig, (1) Berichte, April 1895, Okt. 1895, Okt. 1896, April u. Okt. 1898, April u. Okt. 1899, April 1904. ***Schimper,** W., (1) Anleitung zur mikroskop. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Jena 1886. ***Schneegans** und **Gerock,** (1) Arch. der Pharmacie, 1894, Bd. 232, S. 437. ***Schulte im Hofe,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Pharm. Ges., 1902, Bd. 12, S. 19. ***Schunck,** E., (1) J. f. prakt. Chem., Bd. 66, S. 321; Bd. 73, S. 268; Bd. 74, S. 99; Bd. 75, S. 376. — (2) Liebigs Ann., 1848, Bd. 66, S. 174; 1852, Bd. 81, S. 336; 1853, Bd. 87, S. 350. ***Schweitzer,** C., (1) Pharm. Ztg., 1898, Bd. 43, S. 381. ***Seligmann,** (1) Journ. of Physiology, 1903, Bd. 29, S. 39. ***Senft,** Em., (1) Pharm. Praxis; cit. n. Botan. Centralbl., 1903, Bd. 93, S. 367. ***Sjollema,** B., (1) Ref. in Chem. Centralbl., 1901, Bd. II, S. 299. ***Smith,** H. G., (1) Ref. in Botan. Centralbl., 1907, Bd. 104, S. 291. ***Soden,** H. **von,** (1) J. f. prakt. Chem., 1904, Bd. 69, S. 256. ***Tammann,** G., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1892, Bd. 16, S. 271. ***Tanret,** Ch. und Gg., (1) Bull. Soc. Chimique Paris, 1899, 3. sér., Bd. 21, S. 1065 u. 1073. ***Tanret,** Gg., (1) Les nouveaux remèdes, 1905, Bd. 21, S. 457; ref. in Chem.-Ztg., Repert., 1905, S. 354. ***ter Meulen,** H., (1) Recueil des travaux chim. des Pays-Bas, 1905, Bd. 24, S. 444. ***Thoms,** H., (1) Cit. n. Utz (2). — (2) Ber. d. Deutsch. Pharm. Ges., 1905, Bd. 15, S. 303. ***Tiemann** und **Haarmann,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1876, Bd. 9, S. 1291. ***Traphagen,** F. W., und **Burke,** Edm., (1) Journ. American Chemical Soc., 1902, Bd. 25, S. 242. ***Trillat,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 128, S. 428. ***Tschirch,** A., (1) Indische Heil- und Nutzpflanzen. Leipzig 1892. ***Tschirch,** A., und **Polacco,** (1) Arch. der Pharmacie, 1900, Bd. 238, S. 466. ***Twort,** F. W., (1) Chemical Soc., 18. April 1907; ref. in Chem.-Ztg., 1907, Bd. 31, S. 520. ***Utz,** (1) Oesterr. Chemiker-Ztg., 1903, Bd. 6, S. 385. — (2) Chem.-Ztg., 1905, Bd. 29, S. 31. ***van der Leck,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 17, S. 486. ***Vintilesco,** J., (1) Journ. de Pharm. et de Chim., 1906, 6. sér., Bd. 24, S. 529. — (2) Arch. der Pharmacie, 1907, Bd. 245, S. 180. ***Visser,** A. W., (1) Zeitschrift f. physikal. Chemie, 1905, Bd. 52, S. 257. ***Vogl,** (1) In: Wiesner (2). ***Votoček,** E., und **Vondráček,** R., (1) Zeitschrift f. Zuckerindustrie in Böhmen, 1905, Bd. 29, S. 117. ***Wahgel,** G., (1) Chem.-Ztg., 1903, Bd. 27, S. 280. ***Wahl,** C. **von,** (1) Z. d. ges. Brauwesen, 1900, Bd. 23, S. 441. ***Walden,** P., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. G

1897, Bd. 30, S. 3151; 1898, Bd. 31, S. 3167; 1899, Bd. 32, S. 1613. ***Wang,** E., (1) Cit. n. Chem.-Ztg., 1906, Repert., S. 338. ***Ward,** H. M., und **Dunlop,** J., (1) Annals of Botany, 1887, Bd. 1, S. 1. ***Weevers,** Th., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1904, Bd. 39, S. 229. ***Weil,** R., (1) Arch. f. Hyg., 1900, Bd. 38, S. 330. — (2) Arch. der Pharmacie, 1906, Bd. 245, S. 70. ***Wendelstadt,** H., und **Binz,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1906, Bd. 39, S. 1627. ***Wiesner,** J., (1) Rohstoffe des Pflanzenreichs. 1. Aufl., Leipzig 1873. — (2) Dasselbe, 2. Aufl., 1900/1903. ***Windisch,** K., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1892, Bd. 8, S. 140 u. 259; 1895, Bd. 11, S. 285; 1898, Bd. 14, S. 141. — (2) Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- u. Genußmittel, 1901, Bd. 4, S. 817. — (3) Ebenda, 1902, Bd. 5, S. 653. — (4) Ebenda, 1903, Bd. 6, S. 447. — (5) Die chem. Vorgänge beim Werden des Weines. Stuttgart 1906. ***Wintgen,** M., (1) Zeitschrift f. Untersuchung der Nahrungs- u. Genußmittel, 1906, Bd. 12, S. 113. ***Wittstein,** (1) Jahresber. ü. d. Fortschritte d. Chemie, 1853, S. 435. ***Wöhler** und **Liebig,** (1) Annalen der Pharmacie, 1837, Bd. 22, S. 1. ***Wolff,** J., (1) Zeitschrift f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1901, Bd. 4, S. 391. ***Zeisel** und **Wittmann,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1903, Bd. 36, S. 3554.

(*Manuskript-Einlauf: 31. Aug. 1907.*)

27. Kapitel.

Oxydasenwirkungen.

§ 150. Allgemeines über Oxydasenwirkungen und verwandte Erscheinungen.

Außer der sogen. rein chemischen Anlagerung von Sauerstoff, wie sie z. B. bei dem spontanen Uebergang von schwefliger Säure in Schwefel-5säure an der Luft stattfindet, einerseits und der durch die unmittelbare Lebenstätigkeit der Protoplasten herbeigeführten (katabolitischen) Oxydation organischer Substanz im Atmungsprozeß andrerseits kennen wir noch eine dritte Art der Uebertragung des Sauerstoffs auf oxydierbare Substanzen: die Uebertragung durch Vermittlung von Körpern, die sich 10in ihrem Verhalten gegen gewisse Gifte und gegen Wärme den lebenden Organismen anschließen, welche ferner in bezw. von lebenden Organismen gebildet werden, welche aber von den Organismen getrennt werden können. In ihrem Verhalten schließen sich diese Vermittler der Oxydation also den Enzymen an und werden auch in der Regel als sogen. Oxy-15dasen (im weitesten Sinne) zu den Enzymen gerechnet.

Ein Uebergang zu der ersten Reihe von Oxydationsvorgängen ist dadurch gegeben, daß wir unter diesen eine große Anzahl kennen, bei denen der Sauerstoff durch Vermittlung autoxydabler, den Enzymen allerdings nicht ähnlicher Substanzen (z. B. Terpentin) übertragen wird; 20man vergleiche darüber Engler und Weissberg (1). Die Aehnlichkeit ist, wie wir später sehen werden, um so größer, als die Sauerstoffüberträger zunächst Peroxyde bilden. Andrerseits ist die Atmungsoxydation mit den Oxydationen durch oxydierende „Enzyme“ vielleicht auch durch Uebergänge verbunden, da Palladin (1) in Pflanzen „Atmungs-25enzyme“ gefunden hat. Ein Analogon dazu bilden die glycolytischen Enzyme der tierischen Gewebe, besonders des Blutes, auf die wir auf S. 671 zurückkommen werden.

Wie schon auf S. 258 ausgeführt ist, kennen wir bereits eine große Anzahl von „oxydierenden Enzymen“. Bourquelot (4) unterschied zwei 30Gruppen derselben: 1) Die echten Oxydasen (Aeroxydasen), welche

als echte Enzyme Sauerstoff so lange übertragen, als ihre Tätigkeit nicht durch Enzymgifte oder andere Agentien (Hitze) aufgehoben und als Sauerstoff vorhanden ist, und 2) die Anaeroxydasen oder indirekten Oxydasen, wie ABELOUS und BIARNÈS (1) sie bezeichnen, welche den Sauerstoff, den sie auf oxydable Stoffe übertragen, dem Wasserstoff- 5 superoxyd entnehmen, also nur in Gegenwart dieses Superoxydes wirksam sind. Diesen Anaeroxydasen würden sich die zugleich oxydierenden und reduzierenden Enzyme von ABELOUS und ALOY (2) anschließen, welche den Sauerstoff, den sie auf oxydable Körper übertragen, durch Reduktion anderer Körper (Chlorate, Nitrate) gewinnen sollen. 10

Die Unterscheidung der beiden Gruppen von oxydierenden Katalysatoren wird übrigens dadurch sehr prekär, daß nach A. BACH und R. CHODAT (1—4) die sogen. Oxydasen nichts weiter sind als Gemenge von Peroxyden (Oxygenasen) mit den Sauerstoff in den Peroxyden aktivierenden Körpern (Peroxydasen). Die Oxydasen würden sich nach dieser, u. a. von 15 NEUHAUS (1) bestätigten Anschauung von dem Peroxydase-Hydroperoxyd-Gemisch nur dadurch unterscheiden, daß in ihnen das Hydroperoxyd durch andere Peroxyde ersetzt ist, und es wären, wie auch ASO (1) annimmt, zunächst zweierlei Peroxydasen anzunehmen, von denen die eine das Wasserstoffsuperoxyd stärker aktiviert als Oxygenasen, während die 20 andere sich umgekehrt verhält.

Als Reagens zum Nachweis von Oxydasen bezw. Peroxydasen wurde die Blaufärbung von Guajaktinktur schon von SCHÖNBEIN benutzt, dessen zahlreiche grundlegende Arbeiten SCHAER (1) neuerdings zusammengefaßt hat. BOURQUELOT (1) bediente sich des Guajakols, das nach BERTRAND (10) 25 unter Bildung von Tetraguajakolchinon, $(C_6H_8OCH_3O)_4$, granatrot gefärbt wird. POHL (1) benutzte nach dem Vorgang anderer die Indophenolbildung (Bläuung) in einem Gemisch von α-Naphtol und Paraphenylendiamin:

$$C_{10}H_7OH + C_6H_4(NH_2)_2 + O_2 = 2H_2O + N \begin{cases} C_6H_4NH_2 \\ C_{10}H_6O \end{cases} \qquad 30$$

GRÜSS (1) schlug das WURSTER'sche Tetramethylparaphenylendiamin allein oder in Gegenwart von Soda vor. KASTLE und SHEDD (1) bestimmten kolorimetrisch die Menge des durch Oxydasen aus Phenolphtalin gebildeten Phenolphtaleins. Oxydiert werden ferner schon nach BERTRAND (2) Hydrochinon zu Chinon und Chinhydron, Pyrogallol zu Purpurogallin, 35 wie STRUVE (1) zeigte, und andere Polyphenole. ROSENFELDT (1) maß die oxydierende Wirkung von Oxydasen aus Rettichwurzeln nach der Intensität der Aloinrotbildung in Aloinlösung. Ueber Aloinrot vergleiche man TSCHIRCH und HOFFBAUER (1). Das α-Naphtylamin, Benzidin und Ferrosalze verwendete, neben Phenolphtalin u. a., RACIBORSKI (2) zum 40 Nachweis der oxydierenden Fähigkeit der Wurzeloberfläche von Blütenpflanzen, welcher indessen die schon SCHÖNBEIN aufgefallene Fähigkeit, Jodwasserstoffsäure unter Freiwerden von Jod zu oxydieren, abgeht.

Schon daraus geht hervor, daß die Jodidoxydase von den Phenole angreifenden Oxydasen verschieden ist. Das bestätigt auch A. BACH (3), 45 der drei verschiedene spezifische Peroxydasen unterscheidet, eine, welche Peroxyde (H_2O_2) gegenüber Jodwasserstoff aktiviert, eine andere, welche das gleiche gegenüber aromatischen Phenolen tut, und eine dritte, gegenüber aromatischen Aminen wirksame. Alle drei sind in dem Peroxydasepräparat aus Meerrettichwurzeln vorhanden. Nach ASO (3) geht die Wirkung auf Jodwasserstoff der Wirkung auf Guajaktinktur bei Pflanzen-

säften nicht parallel. Innerhalb der drei Klassen der Jodidoxydasen, Phenolasen, Aminoxydasen geht die Spezifizierung voraussichtlich noch weiter.

Als Typus der Aminoxydasen ist die Tyrosinase anzusehen, welche 5 BERTRAND (6) als die Ursache der Verfärbung von Schnitten und Säften von Zuckerrüben betrachtet, und welche nach ihm nur Tyrosin oxydiert, auf Phenole (Guajaktinktur) aber ohne Wirkung ist. Sie ist auch anderweitig im Pflanzenreich verbreitet. A. BACH (3) faßt die Tyrosinase ähnlich wie die Oxydase, als ein Gemisch einer Oxygenase und einer 10 Peroxydase auf. Während aber Tyrosin von einem Gemisch von Wasserstoffperoxyd und gewöhnlicher Peroxydase nicht angegriffen wird, geschieht das durch ein Gemisch von Wasserstoffsuperoxyd und der in Tyrosinase enthaltenen (spezifischen) Peroxydase. Nach CZAPEK (2) und BERTEL (1) soll die Tyrosinase im pflanzlichen Stoffwechsel eine be- 15 sondere Rolle spielen, insbesondere beim Zustandekommen von Reizkrümmungen eigenartige Hemmungen durch Produktion von Antienzym erfahren. Es sei indes hier schon hervorgehoben, daß die von GONNERMANN (1) auf botanischem Gebiet begründete, von CZAPEK angenommene Anschauung, durch die Tyrosinase werde das Tyrosin zu Homogentisinsäure oxydiert, 20 durch die Untersuchungen von E. SCHULZE und N. CASTORO (1) außerordentlich zweifelhaft geworden ist: Diese Forscher vermochten aus tyrosinasereichen Lupinenkeimlingen Homogentisinsäure nicht darzustellen. Ebensowenig fand E. SCHULZE (1) Homogentisinsäure in dunkelgefärbtem Rübensaft, der überdies auch in frischem Zustande nur sehr wenig Tyrosin 25 enthält. Schon EPSTEIN (1) versuchte vergeblich in einer wässerigen Lösung von Tyrosin oder dem Natriumsalz des Tyrosins durch Rübensaft Färbung herbeizuführen. Man wird danach, zum Vorteil der Wissenschaft, vielleicht allmählich wieder an die von der französischen enzymfrohen Schule ganz vernachlässigten älteren Untersuchungen von REINKE 30 (1 u. 2) über die Ursache der Verfärbung von Pflanzensäften anknüpfen. Wir werden auf S. 676 darauf zurückkommen.

Als Katalase bezeichnet LOEW (3) den von ihm zuerst in Tabakblättern (s. Bd. V, S. 14) festgestellten und als Enzym aufgefaßten Körper, welcher Wasserstoffperoxyd unter Sauerstoffentbindung spaltet, und dessen 35 Zerstörungstemperatur bei ca. 80° liegen soll. Ob, wie POZZI-ESCOT (2) annimmt, die von LOEW als unlösliche Katalase aufgefaßte α-Katalase wirklich nichts ist als adsorptiv an unlösliche Körper gebundene, an sich wasserlösliche β-Katalase, ist noch unentschieden; man vergleiche LOEW (4). Körper von der Wirkung der Katalase, Wasserstoffsuperoxyd 40 unter Entbindung von Sauerstoff spaltend, aber Guajaktinktur nicht bläuend und Hydrochinon nicht (nach LOEW schwach) oxydierend, haben sich inzwischen als sehr verbreitet erwiesen. Schon RAUDNITZ (1) hatte spezifische Enzyme für die Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch rohe Milch und durch Blut verantwortlich gemacht. EULER (2) fand 45 auch Unterschiede zwischen Katalasen verschiedener Herkunft.

In manchen Fällen wird die Oxydase bezw. Peroxydase nach HUNGER (1) und ASO (1) durch die Gegenwart von reduzierenden Körpern (Glucose, Gerbstoffe u. dgl.) oder nach POZZI-ESCOT (1) durch die Gegenwart von reduzierenden Enzymen (Reduktasen) verdeckt.

50 Damit wären wir zu den Reduktasen oder Hydrogenasen gelangt, jenen hypothetischen Enzymen, mit denen ABELOUS und GÉRARD (2) die Wissenschaft zuerst bereichert haben, und die, im Gegensatz zu den Oxydasen, endothermale (Reduktions-) Vorgänge auslösen sollen. Als

Typus einer Reduktase gilt das Philothion, über welches man S. 447 des Vierten Bandes vergleichen möge. Pozzi-Escot (1) rechnet auch die Katalase zu den Hydrogenasen; was allerdings schon von Bach und Chodat (5) widerlegt wurde. Und Abelous und Aloy (2) sowie Abelous (1) fanden ein zugleich oxydierendes und reduzierendes „Enzym“ in Pflanzen (Kartoffelsaft): Durch dasselbe werden bei Gegenwart von Nitrat und Chlorat, unter Reduktion dieser Salze, Aldehyde oxydiert. Es würde sich also um eine der in tierischen Geweben längst bekannten Aldehydasen handeln, die allerdings noch sehr der weiteren Klärung, selbst auch hinsichtlich ihrer Wirkungen, bedarf. Man vergleiche auch Abelous und Aloy (1).

Die spezifische Natur und Verschiedenheit der einzelnen oxydierenden Enzyme wird insbesondere auch von Gessard (4) auf Grund von Untersuchungen behauptet, nach denen Einspritzungen von Glycerinauszügen aus *Russula delica* unter die Haut von Kaninchen dem Serum die Eigenschaft verleihen, die Blaufärbung von Guajaktinktur usw. durch Auszüge von *Russula delica*, nicht aber durch Malzextrakt zu hindern.

Was die Bedeutung der aufgezählten oxydierenden und reduzierenden Enzyme für den Organismus anbetrifft, so sieht Loew die Bedeutung der Katalase darin, daß sie im Stoffwechsel entstehendes Wasserstoffperoxyd, das für das Leben schädigend wirken würde, immer sofort zerstört, ohne eine Beteiligung bei intracellulären Oxydationen zu leugnen. Ob die Katalase auch andere im Stoffwechsel entstehende Peroxyde zerstören würde oder spezifisch nur Wasserstoffsuperoxyd zerlegt, steht noch nicht fest. Chodat und Bach (7) fanden, daß Aethylhydroperoxyd (C_2H_5OOH) von aus *Sterigmatocystis nigra* dargestellter Katalase nicht katalysiert wird. Chodat und Bach (1 u. 2) finden denn auch Wasserstoffperoxyd keineswegs besonders stark giftig, vermochten vielmehr Schimmelpilze noch in einer konstant 0,68 Proz. Wasserstoffsuperoxyd enthaltenden Nährlösung zu züchten. Auch nach Lesser (1) dürfte die (tierische) Katalase im Zusammenhang mit der biochemischen Oxydation stehen, ihr die Rolle der Entgiftung von Peroxyden aber nicht zufallen. Katalasen und Oxydasen stören sich nach Bach (2) nicht, schon weil Katalase die Oxygenasen nicht katalysiert. Die Rolle der Oxydasen hält Loew (1) für gering. Raciborski (1) glaubt, daß sein Leptomin (Peroxydase) eine ähnliche Rolle in Pflanzenkörpern spielt wie das Hämoglobin und Hämocyanin im Tierkörper. Sieber (1) schiebt den Blutoxydasen auf Grund seiner Entdeckung, daß Diphtherie- und Tetanustoxin von Globulinoxydasen rasch entgiftet werden, eine Rolle bei der Entgiftung von Toxinen und bei der Immunisierung zu. Raciborski (3) vermochte bei Kulturversuchen in oxydasenhaltigen Nährlösungen allerdings eine Beeinträchtigung des Gedeihens der verschiedensten geprüften Pilze und der spontan sich einfindenden Bakterien und Hefen nicht zu beobachten. Auch die Trillat'schen künstlichen Oxydasen (s. § 151) sollen nach A. und L. Lumière und Chevrottier (1) Tetanustoxin wenigstens schwächen. Andrerseits führt Woods (1) gewisse Blattkrankheiten grüner Pflanzen auf eine abnorm starke Produktion von (
das Chlorophyll zerstören. Für die Atmung
Zucker oxydierende Oxydasen in Betracht,
weben vielfach angegeben sind; man ver
Oppenheimer (1) und die Untersuchungen
dasen bei der Glycolyse im Tierkörper ei
und Embden (1) konnten die Angaben v

nach denen eine Beigabe von Pankreas-Auszug die an sich geringe Glycolyse der Muskeln außerordentlich verstärkt, nicht bestätigen und führen diese Angaben auf eine Täuschung durch Bakterien zurück, was COHNHEIM (2) indes bestreitet. HAHN (1) sah Glycolyse im Preßsaft der 5 Kolben von *Arum maculatum*. KOSTYTSCHEW (1) und MAXIMOW (1) beobachteten beim Zusammenbringen von Acetondauerpräparaten und Preßsaft von *Aspergillus niger* mit Zuckerlösung Entstehung von Kohlendioxyd unter Verbrauch von Sauerstoff. Besonders wertvoll sind die Untersuchungen PALLADIN's (1), der zu dem Ergebnis kommt, der als Atmung 10 zusammengefaßte Gasumsatz müsse als Resultat aller durch die gemeinsame Arbeit mehrerer Enzyme bewirkten Vorgänge aufgefaßt werden. Die Enzyme, welche Kohlensäure abspalten, nennt er Carbonasen oder Carboxylasen. Die Möglichkeit, daß auch die BUCHNER'sche Zymase dabei eine Rolle spielt, kann aus dem positiven Ausfall von JUNITZKY's (1) 15 Versuchen gefolgert werden, bei denen der Preßsaft an der Luft (ohne Gärtätigkeit) gewachsener Mycelien von *Aspergillus niger* alkoholische Gärung in Zuckerlösung hervorrief. Die Frage nach der Rolle von Oxydasen bei dem Atmungsprozeß ist zurzeit noch sehr umstritten. Während die einen für jeden Oxydationsprozeß (Oxydation von Fetten, Zucker usw.) 20 eine spezifische Oxydase anzunehmen geneigt sind, wird von anderen den Oxydasen im Stoffwechsel des lebenden Organismus höchstens eine sehr bescheidene Rolle zugebilligt und die Oxydation der verschiedenen Stoffe im Atmungsprozeß als eine Lebensäußerung des Plasmas betrachtet. LOEW (2) selbst will den Oxydasen nur hinsichtlich der Verbrennung der 25 Benzolderivate eine Bedeutung zuerkennen, während die Stoffe der Fettreihe im Atmungsprozeß durch das Protoplasma oxydiert werden sollen. Dagegen fand KRASNOSSELSKY (1), im Einklang mit der Steigerung der Atmungsintensität nach Verwundung, auch die Quantität der „Atmungsenzyme" (Carboxylasen) erhöht.

30 **§ 151. Natur der Oxydasen und verwandten Enzyme.**

Mit den besser bekannten hydrolysierenden Enzymen teilen die hierher gehörigen Körper die Eigenschaft, daß sie durch Alkohol niedergeschlagen werden, in Alkohol unlöslich sind, und daß sie, wenigstens vielfach, auch durch Salze (Ammoniumsulfat) sich aussalzen lassen, daß 35 indessen es noch nicht möglich war, auf die eine oder andere Weise die Körper zweifellos rein darzustellen. Daß das durch Alkohol gefällte oxydierende Enzym der Meerrettichwurzel wahrscheinlich ein Gemenge von verschiedenen Oxydasen ist, ist bereits auf S. 669 erwähnt worden. Zweifellos sind auch andere Körper (Eiweißstoffe, Kohlenhydrate, Mineral- 40 stoffe) beigemengt. Wenn GONNERMANN (2) die Tyrosinase Glycoside spalten sah, so folgt daraus wohl zweifellos, daß sein Präparat Emulsin enthielt. Eine von PETIT und TERRAT (1) aus Artischoken-Fruchtböden gewonnene Oxydase färbte nicht nur Guajaktinktur blau, sondern spaltete auch Natriumglycerophosphat unter Entbindung von Phosphorsäure. 45 Denkbar ist sogar, daß die Oxydasen gar nicht unlöslich in Alkohol sind, sondern adsorptiv von den durch Alkohol ausgefällten anderen Substanzen mitgerissen werden.

Da es also zweifelhaft ist, inwiefern es bei den darstellbaren Präparaten sich um reine Oxydasen handelt, haben chemische Untersuchungen 50 zunächst relativ wenig Interesse. Indes sei hier doch erwähnt, daß in

den untersuchten Oxydase-Präparaten immer Stickstoff gefunden worden ist. Abgesehen davon, daß nach GREEN (1) bereits YOSHIDA im Jahre 1883 den durch Hitze zerstörbaren Körper, der die Urushisäure des Rindensaftes vom japanischen Lackbaum (vergl. § 153) in Lack verwandelt, stickstoffhaltig fand, wiesen TSCHIRCH und STEVENS (1) durch die Bildung von Pyrrol beim Erhitzen mit Kaliumhydroxyd in verschiedenen Oxydasepräparaten Stickstoff nach. A. BACH (6) bestätigte das auch für die möglichst sorgfältig gereinigte Peroxydase der Laccase, und konnte, im Gegensatz zu TSCHIRCH und STEVENS, auch mittels der LASSAIGNE'schen Reaktion Stickstoff in der Laccase-Peroxydase und in einer Pilzoxydase auffinden. SPITZER (1) hält die Oxydationsenzyme für Nucleoproteide, während nach CHODAT und BACH (5) die Peroxydasepräparate um so weniger Eiweißreaktion zeigen, je mehr sie gereinigt worden sind. Auch JAKOBY (1) spricht der Aldehydase der Rindsleber die Zugehörigkeit zu den Eiweißkörpern ab. ROSENFELDT (1) erhielt aus Wurzeln von *Raphanus sativus* nach der Methode von BACH und CHODAT ein Oxydasepräparat, das neben 62—70 Proz. Aschenbestandteilen Stickstoff enthielt. Daraus stellte er eine kristallisierte „Oxydase" dar, welche die Eiweißreaktionen nicht mehr gab, aber stickstoffhaltig war.

Neben diesen Bemühungen, welche der Mehrzahl nach die „Oxydasen" als analog den bekannteren (hydrolysierenden) Enzymen zu erweisen trachten, laufen andere, welche die Hauptrolle in den Oxydasen gewissen Aschenbestandteilen derselben zuzuschreiben geneigt sind. Es war der Entdecker der Oxydasen, BERTRAND (7), dem zunächst der hohe Gehalt der Oxydase des Lackbaumes an Mangan (2,5 Proz. der Gesamtasche) auffiel, und der dann fand, daß mit dem Gehalt der Oxydasen an Mangan ihre Wirksamkeit parallel geht. Durch Zusatz von geringen Mengen Mangansalz als „Coferment" vermochte er die Wirksamkeit einer manganarmen Oxydase aus Luzerne auf das Zwanzigfache zu steigern. Durch Eisen kann das Mangan nicht ersetzt werden. Auf Grund weiterer Untersuchungen faßt BERTRAND (8) dann die Oxydase als Mangansalz einer schwachen, zu den Proteinen gehörigen Säure von hohem Molekulargewicht auf, die in Wasser sehr weitgehend hydrolytisch zerfällt. Das manganhaltige Dissoziationsprodukt oxydiert sich an der Luft zu Mangandioxyd. Dabei wird das Sauerstoffmolekül gespalten und ein Atom Sauerstoff zu Oxydationen frei. Andererseits gibt auch das Mangandioxyd leicht Sauerstoff an autoxydable Körper ab, worauf der Prozeß von neuem beginnen kann. Nach LAGATU (1) kann, im Gegensatz zu BERTRAND's Anschauung, das Mangan durch Eisen ersetzt werden; insbesondere soll das bei der später zu besprechenden Oenoxydase der Fall sein. Auch die Schinoxydase SARTHOU's (1) gehört zu den Eisenoxydasen, während die von SLOWTZOFF (1) dargestellten oxydierenden Enzyme aus Kartoffeln und Kohl, welche alle Eiweißreaktionen gaben, wohl Stickstoff und Schwefel, aber weder Mangan noch Phosphor enthielten. Bei der Oxydation des Boletols, infolge deren die Schnittflächen von *Boletus*-Arten sich bläuen, spielen neben der (manganhaltigen) Laccase nach BERTRAND (9) auch Erdalkali- oder Alkali-Ve[illegible]
Neuerdings hat TRILLAT (1) die BERTRAND'sc[illegible]
folgt und insbesondere in alkalischen Mangansal[illegible]
Kolloide zugesetzt wurden, Oxydationswirk[illegible]
J. DE REY-PAILHADE (1) wird auch der labile [illegible]
nicht nur durch natürliche Oxydasen, sondern [illegible]
schen anorganischen Oxydasen oxydiert. Aucl[illegible]

Oxydsalzen von Eisen, Kupfer, Mangan und Chrom allein, mit den Oxydulsalzen derselben Metalle bei gleichzeitiger Anwesenheit von Wasserstoffsuperoxyd, die Bläuung von Guajaktinktur hervorrufen. Erstere verhielten sich wie Oxydasen, letztere wie Peroxydasen. Die TRILLAT'schen, mit 5 Gelatine bereiteten Manganlösungen ähneln Enzymlösungen um so mehr, als sie durch längeres Erhitzen unwirksam werden; allerdings erhalten sie ihre Wirksamkeit allmählich wieder. Nach GAUTIER (1) gibt die Kulturflüssigkeit gewisser pathogener Schimmelpilze (*Aspergillus, Trichophyton, Achorion*) bei Gegenwart geringer Mengen von Mangansalz die 10 Farbreaktionen der Oxydasen, und es scheint, als ob flüchtige alkalisch reagierende Produkte die Mangansalze aktivieren, wie bei den TRILLAT'schen Präparaten. Das Destillat der zuvor alkalisch gemachten Flüssigkeiten gab die Reaktion wenigstens stärker.

Die BERTRAND'sche Hypothese scheint geeignet, eine Erklärung für 15 die vielfach beobachtete günstige Wirkung einer Düngung mit Mangansalzen auf den Pflanzenwuchs zu liefern. So läßt sich nach E. KAYSER und MARCHAND (1) die Intensität der alkoholischen Gärung und die Alkoholausbeute (s. Bd. IV, S. 357) durch Manganzusatz (Mangansulfat) steigern, und die Hefe soll ihre durch den Manganzusatz erworbenen 20 Eigenschaften eine Reihe von Generationen hindurch bewahren. Nicht dasselbe gelang ROTHENBACH und HOFFMANN (2) bei Essigbakterien, die nach BUCHNER und GAUNT (1) Eisen enthalten, durch Eisen- oder Manganzusatz. GÖSSL (1) beobachtete dagegen wieder Förderung des Gedeihens von Pilzen bei Darbietung einer optimalen Menge von Mangansalz. Ueber 25 die Wirkung einer Mangandüngung auf höhere Pflanzen vergleiche man LOEW (5 u. 6), LOEW und HONDA (1), NAGAOKA (1), KATAYAMA (1), BERTRAND (1). Nach AD. MAYER (1) erklären allerdings SJOLLEMA und HUDIG die günstige Wirkung der Mangandüngung auf Moorboden etwas anders, nämlich durch die Annahme, daß das Mangansalz giftiges Hydroperoxyd, 30 das sich im humusreichen Boden infolge der durch die alkalische Reaktion desselben geförderten Autoxydation bilde, katalytisch zersetze und so unschädlich mache.

Nach diesen Vorstellungen besonders französischer Forscher über die Konstitution der oxydierenden Enzyme würden diese sich eher den 35 anorganischen kolloidalen Katalysatoren, den Modellen der Enzyme, wie sie besonders BREDIG (1) behandelt, als den echten Enzymen anreihen. Nach MICHEELS und P. DE HEEN (1) sollen ja auch kolloidale Mangan- und Zinnlösungen beide die Keimung der Samen fördern. Indes haben schon CHODAT und BACH (1, 3, 4) nachgewiesen, daß die von ihnen aus 40 Meerrettich und Kürbis dargestellten Peroxydasen zwar manganhaltig waren, aber ohne Gegenwart von Peroxyden nicht wirkten, daß also die Ansicht BERTRAND's falsch sein muß. CHODAT und BACH betrachten, wie bereits früher erwähnt worden ist, die Oxydasen als Gemenge von Oxygenasen (Peroxyden) und Peroxydasen (die Peroxyde aktivierende 45 Körper) und rechnen wenigstens letztere im Gegensatz zu OPPENHEIMER (1) zu den echten Enzymen, obwohl BACH und CHODAT (7 u. 8) selbst betonen, daß ein Unterschied besteht: Während die echten Enzyme im Verhältnis zu der wirkenden Menge sehr große Mengen des Substrats umzuwandeln vermögen, wird die Peroxydase im Prozeß der Peroxyd-50 aktivierung völlig und rasch verbraucht. Man vergleiche auch CHODAT (1). BACH (1) hat später noch die Konstanz des Verhältnisses zwischen Peroxydase und aktiviertem Peroxyd für die Jodwasserstoffzersetzung bestätigt und nimmt (5) bei Untersuchungen über das Verhalten der Per-

oxydase zu Hydroxylamin, Hydrazin und Cyanwasserstoff an, daß ein Molekül Peroxydase mit einem Molekül Wasserstoffsuperoxyd bezw. Peroxyd reagiert. Nach den letzteren Untersuchungen beruht die Lähmung der Peroxydase durch die genannten Gifte nicht auf einer Giftwirkung, sondern darauf, daß die Peroxydase sich mit den Körpern nach stöchiometrischen Verhältnissen verbindet. Daß das Verhältnis zwischen der Menge der Oxydase und derjenigen des oxydierten Körpers konstant ist, bestätigte Raciborski (3) für die Oxydation von Benzidin.

Gewisse Zweifel an der Enzymnatur der Oxydasen sind bei dieser Lage der Dinge gewiß berechtigt, zumal eigentlich neben der Vernichtung durch Hitze und Gifte und neben dem Ursprung von und aus Organismen wesentlich nur das Mißverhältnis zwischen der geringen Menge des wirkenden Stoffes und dem großen Umfang der von ihm ausgelösten Wirkung die Enzyme charakterisiert. Aber selbst über die Zerstörung durch Hitze liegen Angaben vor, welche mit der Enzymnatur nicht recht übereinstimmen. Nach Hunger (2) nimmt die Widerstandsfähigkeit der Oxydasen der Cocosmilch und der Tabakblätter mit dem Alter der Organe zu. Tarugi (1) fand, daß Oxydasen, welche die Fähigkeit, Guajaktinktur zu bläuen, durch Erhitzen verloren hatten, dieselbe zum Teil schon beim Stehen an der Luft, sicher aber durch Zusatz von altem Terpentinöl oder Wasserstoffsuperoxyd (Peroxyden) wiedererlangten. Auch Porodko (1), Woods (2) und Linossier (1) sahen die Fähigkeit der Guajakbläuung bei durch Hitze getöteten Oxydasen wiederkehren. Pohl (1) hatte schon früher sogar Fälle beobachtet, in denen die Oxydase-Reaktion durch Aufkochen überhaupt nicht beeinträchtigt wurde; das war der Fall bei Tannennadel- und Hefenextrakt, aus denen der wirksame (die Indophenolreaktion erregende) Körper sich auch nicht durch Alkohol ausfällen ließ. Gegenüber der Enzymtheorie fällt schwer ins Gewicht der von Pohl geführte Nachweis, daß reines Amygdalin die Indophenolreaktion gibt. Nach Chodat und Bach (6) selbst vernichtet kurzes Aufkochen gewisse Oxydasen nicht, während längeres Erhitzen zerstörend wirkt.

Demgegenüber steht die von Woods und von Aso (1) gemachte Annahme, die (scheinbare) Widerstandsfähigkeit gewisser oxydierender Enzyme gegen Hitze rühre von der Gegenwart resistenterer Zymogene her, aus denen nach dem Erkalten das Enzym regeneriert werde. Solche Zymogene (Proenzyme) nimmt auch Bach (4) an; nach ihm soll Jod die Proenzyme in Peroxydase überführen.

Jedenfalls geht aus allem bisher Gesagten hervor, wie wenig geklärt die Frage nach der Natur der Oxydasen, Peroxydasen und, wie wir wohl anfügen dürfen, auch der Katalasen bisher noch ist, und wie berechtigt daher die schon von Behrens (1) geäußerten Zweifel an ihrer Zugehörigkeit zu den Enzymen noch immer sind. Aso (2 u. 3) hält die Oxydation der Jodwasserstoffsäure durch Pflanzensäfte überhaupt nicht für eine Oxydasewirkung, sondern führt sie auf Nitrite bzw. Salpetersäure zurück, was allerdings von Chodat und Bach (6) widerlegt wurde. Kastle und Loevenhart (1) sehen in den Oxydasen und Peroxydasen nichts als Peroxyde organischer Natur, welche durch Autoxydation an der Luft bezw. durch Wasserstoffsuperoxyd entstehen, ähnlich dem Benzoylperoxyd. Wie die der Aldehydoxyde, so ist auch die oxydierende Wirkung der Oxydasen usw. ganz bestimmt begrenzt und weit verschieden von der scheinbar unbegrenzten Wirkung der echten Enzyme, wie das auch Chodat und Bach sowie Bach gezeigt haben (s. S. 674). Tarugi (1)

von Farbstoffen u. dergl.) nach RÖHMANN und SPITZER (1), ABELOU
GÉRARD (2), HEFFTER (1), MAASSEN (1) und JOHANNSEN (1) durch K
15 der „Enzyme" oder durch Blausäure nicht oder nur wenig gestört w
während das allerdings bei anderen Reduktionsvorgängen der Fa
so z. B. bei der Reduktion der Nitrate und des Nitrobenzols, di
ABELOUS und GÉRARD (3 u. 4), MAASSEN (1), STEPANOW (1), KASTL
ELVOVE (1) und VOGELSOHN (1) studiert worden ist. Schon im
20 1904 haben HEFFTER und HAUSMANN (1) den Nachweis geliefert
die von HEFFTER (1) aufgefundene Reduktion der Kakodylsäure u
Reduktion von Schwefel durch tierische Gewebe und Eiweißkörpe
enzymatischen Vorgängen nichts gemeinsam haben. Die damals
sprochene Vermutung, daß diese Reduktionen durch labilen, in de
25 weißkörpern mercaptanartig gebundenen Wasserstoff bewirkt w
fand HEFFTER (2) neuerdings bestätigt. Mit Hilfe von Cystei
anderen Sulfhydrylverbindungen ließen sich Arsensäure zu ars
Säure, Jodate zu Jodiden, Tellurite und Tellurate zu Tellur, Queck
chlorür zu Quecksilber, ferner Kakodylsäure sowie Pikrinsäure, e
30 auch Farbstoffe reduzieren, alles Reduktionen, welche von verschi
Autoren Enzymen zugeschrieben worden sind, und weiter ließ sich
noch feststellen, daß das Gelingen des Nachweises von Sulfhyd
bindungen in tierischen Geweben Hand in Hand mit der Redu
fähigkeit gegenüber Schwefel geht. Wenn in gewissen Fällen d
35 duktionswirkung von Säften und Extrakten durch Erhitzen gesch
oder vernichtet wird, so z. B. bei Hefenpreßsaft nach HAHN (1
tierischen Organen nach JOHANNSEN (1), so rührt das wahrsch
von der leichten Veränderlichkeit der Sulfhydrylgruppe her. W
Reduktion der Nitrate durch Gewebesäfte zu erklären ist, die
40 Sulfhydrylverbindungen nicht zu erzielen war, läßt HEFFTER zu
unentschieden. Nach WRÓBLEWSKI (1) ist die Nitratreduktion im
preßsaft wohl nicht enzymatischer Natur.

Mit Recht weist HEFFTER unter Bezugnahme auf ENGLE
BRONIATOWSKI (1) darauf hin, daß der Nachweis der reduzierende
45 autoxydablen Sulfhydrylverbindungen in der Zelle auch einen Fort
für die Aufklärung der Oxydationsvorgänge bedeuten dürfte. Bei

nachgetragen, daß GONNERMANN (1) die Tyrosinase überhaupt nicht für ein oxydierendes, sondern für ein Tyrosin zu einem an der Luft sich oxydierenden Körper verseifendes Enzym hält. CHODAT (2) widerspricht dieser Anschauung ebenso wie derjenigen BACH's (s. S. 670), nach der die Tyrosinase ein Gemisch einer spezifischen Peroxydase mit einem Peroxyd sein soll. Nach ihm wirkt die Tyrosinase auf Tyrosin nur bei Gegenwart und unter Anteilnahme des Sauerstoffs. Im gleichen Aufsatze teilt CHODAT mit, daß nach von ihm gemeinsam mit PASMANIK gemachten Untersuchungen Peroxydase, Katalase, Pepsin (0,1 Proz.) die Ionisation des Wassers steigern sollen. Danach nimmt er an, daß die gemeinsame Wirkung aller Enzyme in der Uebertragung der Ionen des Wassers auf spezifische Substrate bestehe.

Nach alledem sei noch ausdrücklich bemerkt, daß, wenn hier von oxydierenden und reduzierenden Enzymen gesprochen wird, diese Ausdrucksweise um der Kürze wegen gewählt ist, über die Natur der wirksamen Körper aber nichts ausgesagt werden soll.

§ 152. Bildung von Oxydasen durch Gärungsorganismen.

Wollten wir alle von irgendwelchen Autoren auf Oxydasen zurückgeführten Fälle von Oxydationen durch Pilze hier anführen, so bliebe nichts übrig, als sämtliche Prozesse des inneren und äußeren Stoffwechsels, soweit sie Oxydationen sind, hier zu behandeln. Dahin würde vor allem der Atmungsprozeß, die Verbrennung der Pilzsubstanz unter Ausscheidung von Kohlensäure, gehören, aber auch die Bildung organischer Säuren (Oxalsäure, Citronensäure usw.) aus Zucker. Ueber letztere möge man das 11. Kapitel des Vierten Bandes, über die Essigsäurebildung aus Alkohol das 19. Kapitel des Fünften Bandes vergleichen. Bei den Essigbakterien haben BUCHNER und MEISENHEIMER (1), BUCHNER und GAUNT (1), ROTHENBACH und EBERLEIN (1), sowie ROTHENBACH und HOFFMANN (1) wenigstens das Vermögen, den Alkohol zu Essigsäure zu oxydieren, vom Leben des Organismus durch Behandlung mit Aceton (vergl. Bd. IV, S. 368) getrennt. Die „Dauer-Essigbakterien“ oxydierten Propylalkohol zu Propionsäure. Die Blaufärbung von Guajaktinktur durch Essigbakterien ist indessen nach HENNEBERG und WILKE (1) auf eine Oxydase zurückzuführen, die durch Kochen nicht zerstört wird. Die Essigbakterien führen aber auch zahlreiche andere biochemische Oxydationen aus. Nach BROWN (1) und SEIFERT (1) oxydiert *Bacterium aceti* Mannit zu Fructose. Wahrscheinlich sind es auch Essigbakterien, welche bei BOUTROUX's (1) Versuchen Traubenzucker zu Glucon- und Oxygluconsäure oxydierten. *Bact. xylinum* vermag nach VINCENT und DELACHANAL (1) Mannit in d-Fructose überzuführen. *Bact. oxydans* leistet nach HENNEBERG (1) dasselbe. Besonders wertvoll sind indessen die Ergebnisse der Untersuchungen BERTRAND's (4) über die Einwirkung des *Bact. xylinum* auf Alkohole der Zuckerarten und letztere selbst: Glycerin wird zu Dioxyaceton, Erythrit zu Erythrose, Xylose zu Xylonsäure, Sorbit zu Sorbose oxydiert, während das Bakterium auf Xylit und Dulcit ohne Einfluß ist. Auch andere Bakterien sollen nach PÉRÉ (1) ähnlich wirken: *Tyrothrix tenuis* und *Bacillus mesentericus vulgatus* oxydieren Mannit zu d-Mannose, vielleicht Glycerin zu Glycerose. *Bac. subtilis* bildet aus Mannit d-Fructose. Schon daraus sowie aus der A gabe SAZERAC's (1), daß ein von ihm isolierter Mikrobe wohl Sor

nicht aber Aethylalkohol oxydiert, geht hervor, daß die Agentien, durch welche die Bakterien den Aethylalkohol zu Essigsäure oxydieren, von denen, mit welchen sie die anderen Oxydationen bewirken, verschieden sind.

Nach Roux (1) bildet *Bacterium coli commune* eine Oxydase, welche 5 bei Sauerstoffzutritt einen im Fruchtboden der Artischoke enthaltenen farblosen Körper zu einem grünen Farbstoff oxydiert und Hydrochinon braun färbt. Beide Verfärbungen werden auch durch Laccase (vergl. § 153) erzeugt.

Ueber die hypothetische Oxydase der nitritbildenden Bakterien ver-10 gleiche man S. 168 des Dritten Bandes, über oxydasebildende Milchbakterien den § 155.

Tyrosinaseproduktion gibt Gessard (1) für *Bacillus pyocyaneus* an, Lehmann (1) auch für andere Bakterien, z. B. den *Bac. fluorescens non liquefaciens*, welche den Nährboden bei Bildung oder Gegenwart von 15 Tyrosin dunkel färben. J. van der Leck (1) sah verschiedene Arten (*Bacillus tyrosinaticus* Beijerinck, viele Pigmentbakterien) tyrosinhaltige Nährböden schwarz färben.

Auf die Katalase der Bodenorganismen, wesentlich also wohl der Bakterien, dürfte die von König, Hasenbäumer und Coppenrath (1) 20 näher verfolgte katalytische Zersetzung des Wasserstoffperoxyds durch Ackerboden zurückzuführen sein.

Nach Henneberg (2) und Issajew (2) enthalten die Hefen und Mycodermen Katalase. Ueber das Auftreten von Oxydasen, und zwar einer Aminoxydase, in der Hefenzelle liegen zunächst Untersuchungen von 25 Grüss (1) vor. Nach Issajew (1) oxydiert die in Oberhefe reichlicher als in Unterhefe vorkommende, vielfach durch reduzierende Körper maskierte Oxydase der Hefe aber auch Polyphenole. Die Peroxydase der Hefe von Grüss (2) dürfte mit der Hefenkatalase identisch sein, da sie, wie diese, zwar Sauerstoff aus Wasserstoffsuperoxyd abspaltet, 30 aber Guajaktinktur auch bei Gegenwart dieses Superoxydes nicht bläut. Sie soll indessen mit Ursol D bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd Farbstoffreaktion geben. Neumann Wender (3) erklärt die günstige Wirkung eines Zusatzes von Wasserstoffsuperoxyd zu Brennereimaische (s. Bd. V, S. 304) durch die Annahme, daß der durch die Hefenkatalase 35 daraus abgespaltene Sauerstoff die Hefe begünstigt, Schädlinge der Gärung aber hemmt. Nach P. Lindner (1) hat Effront gezeigt, daß die Hefe sich gegen Aldehyd (Formaldehyd), der der Gärflüssigkeit zugesetzt wird, durch vermehrte Ausscheidung von oxydierenden Enzymen schützt. Das wäre analog dem auf S. 448 des Vierten Bandes erwähnten 40 Selbstschutz der Hefe gegen schweflige Säure. Tolomei (1) schreibt den Oxydasen der Weinhefe eine Rolle bei der Bouquetbildung des Weines zu, ohne allerdings wirklich beweiskräftige Versuche angestellt zu haben.

Erwähnt sei noch, daß Schroeder (1) mit Plasmodien der Lohblüte (*Fuligo varians*) sowohl Oxydase- (Laccase-) als auch Tyrosinase-Reaktion 45 erhielt. Die Blau- bezw. Schwarzfärbung war aber an suspendierte feste Plasmapartikel gebunden und ließ sich nicht von diesen getrennt erhalten. Hydroperoxydzusatz verstärkte die Reaktion auf Guajaktinktur sowie auf Hydrochinon, so daß auch Peroxydase vorhanden sein dürfte.

Ueber Oxydasen von *Aspergillus* und *Penicillium* vergleiche man 50 S. 290 des Vierten Bandes. Produktion von Tyrosinase stellte Went (1) bei *Monilia sitophila* (Mont.) Sacc. fest (s. Bd. IV, S. 338), auch bei Ernährung mit einer Zuckerart, Glycerin oder Natriumacetat und Ammoniumnitrat, also selbst wenn weder Tyrosin noch solche Substanzen in der

Nährlösung vorhanden sind, aus denen Tyrosin abgespalten werden kann. Ueber die Oxydase der *Botrytis cinerea* vergleiche man § 153. Nach RACIBORSKI (3) bildet *Alternaria tenuis* NEES eine extracelluläre Phenolase, welche Guajaktinktur und Benzidin bläut, Ursol D schwärzt, Pyrogallol dunkelbraun und Barbados-Aloe rot färbt, Phenolphtalin zu Phenolphtalein und Eisenoxydulsalz zu Eisenoxyd oxydiert. Eine Jodidoxydase, wie sie *Aspergillus niger* nach RACIBORSKI (4) bildet, oder Tyrosinase wird von *Alternaria* nicht abgeschieden. Umgekehrt scheint der *Aspergillus* eine Phenolase nicht auszuscheiden. Ueber Oxydationen der aromatischen Spaltlinge von Glycosiden vergleiche man S. 251 des Vierten Bandes. Die Bildung von Katalase in Kulturen des *Aspergillus niger* wies RACIBORSKI an anderer Stelle (6) nach, wo auch über das augenscheinlich recht verschiedenartige Schicksal des Tyrosins in Zuchten von *Aspergillus* sowie von anderen Pilzen (*Penicillium glaucum*, *Alternaria tenuis*, *Thamnidium elegans*, *Saprolegnia sp.*, *Basidiobolus ranarum*, *Willia anomala*) berichtet wird. Uebrigens hatten schon BACH und CHODAT (5) früher mit einer durch Zerreiben des Mycels von *Aspergillus* (*Sterigmatocystis*) *niger* erhaltenen Katalase gearbeitet.

Ueber das Vorkommen von Oxydasen und verwandten Enzymen in Basidiomyceten sind bereits auf S. 271 Mitteilungen gemacht worden. Die Tatsachen, welche die neueren, besonders französischen Forscher hier zur Schaffung von oxydierenden Enzymen führten, kannte im wesentlichen schon SCHÖNBEIN (1), der die Verfärbung der Pilzsäfte und Schnittflächen durch die Annahme erklärte, daß ein Chromogen durch entstehende Peroxyde (Ozon) oxydiert werde. H. EULER (1) fand die Wirkung der Katalase von *Boletus scaber* nach ungefährer Berechnung sicher sehr viel größer als die des kolloidalen Platins. *Polyporus squamosus* HUDS. enthält nach R. BULLER (1) neben einer Phenolase, welche Hydrochinon oxydiert, Tyrosinase. In *Lactarius sanguifluus* fand E. ROUGE (1) oxydierende Enzyme nicht. Dagegen haben CHODAT und BACH (4) u. a. aus *Lactarius vellereus* sowie aus *Russula foetens* Präparate dargestellt, welche nicht nur Hydrochinon, Pyrogallol, Guajakharz, sondern auch Jodwasserstoff oxydierten. LEBAT (1) vermochte durch oxydasehaltige Auszüge aus *Russula delica* und *R. foetens* Vanillin zu Dehydrovanillin zu oxydieren. Er erhielt denselben Körper auch durch Oxydation mit oxydasehaltiger Lösung von arabischem Gummi, BOURQUELOT und MARCHANDIER (1) mit Kleienauszug, mit dem sich auch Morphin zu Oxymorphin oxydieren ließ.

§ 153. Technisch wichtige Vorgänge, welche auf Oxydasen zurückgeführt werden.

Hierher gehören zahlreiche Fälle von rascher Verfärbung frischer Pflanzensäfte oder vom Auftreten postmortaler Farbenänderung von Pflanzenteilen bei Nekrobiose (Absterben unter Bedingungen, bei denen vorhandene Enzyme weiterwirken).

Das älteste auf Oxydasen zurückgeführte Beispiel bietet die Bereitung des **japanischen Lacks**, jenes glänzenden, ungemein dauerhaften Belags, mit welchem in Ostasien Möbel, Haushaltungsgegenstände usw. überzogen werden. Das Material zu diesem Lack liefert nach YOSHIDA (1) der dicke, rahmartige, gelbe Milchsaft der in Ostasien heimischen Anacardiacee *Rhus vernicifera*, den man durch Anschneiden der Rinde gewinnt. An der Luft färbt sich der austretende Saft, der für technisc

Zwecke mit dem Oel der *Bignonia tomentosa* und (für rote Lacke) mit Zinnober gemischt wird, bald dunkel, bedeckt sich mit einer zähen schwarzen Haut und wird schließlich fest. Bei Sauerstoffabschluß hält sich der Milchsaft lange unverändert. Zweifellos handelt es sich also 5 um eine Oxydation, welche nach BERTRAND (1 u. 2) ein im Milchsaft vorhandenes, auf der Haut heftige Rötung und Entzündung hervorrufendes Polyphenol Laccol erleidet. Als Sauerstoffüberträger wirkt dabei eine im Milchsaft ebenfalls vorhandene Oxydase, die bereits mehrfach erwähnte Laccase, welche das Laccol in eine harte, schwarze, in Wasser, 10 Alkohol, Aether unlösliche Verbindung von höherer Oxydationsstufe überführt. Ohne Laccase oxydiert sich das Laccol an der Luft ebenfalls, es entsteht aber nur eine harzige, lösliche Schmiere. Die Laccase oxydiert nach BERTRAND (5) aber auch andere Polyphenole und aromatische Polyamine, soweit sie zwei Hydroxyl- bezw. Aminogruppen in der Ortho- oder 15 in der Parastellung enthalten. Oxydiert werden z. B. Hydrochinon und Pyrogallol, aber auch Gallussäure und Tannin. Guajaktinktur wird gebläut. Eine chemische Untersuchung der Lackbildung verdanken wir TSCHIRCH und STEVENS (2).

Die **Rot-** bezw. **Braunfärbung** der Schnittflächen und Preßsäfte 20 von **Aepfeln,** die bei der Apfelweinbereitung so auffallend ist, wird von LINDET (1) erklärt als von einer Oxydase bewirkt, welche das Tannin der Aepfel oxydiert. Auch die Verfärbung der Birne bezw. des Birnensaftes wird von BERTRAND (3) auf einen ähnlichen Vorgang zurückgeführt. BEHRENS (1) sucht die Braunfärbung als einfache Lederbildung, Ver- 25 einigung eines Oxydationsproduktes des Gerbstoffs der Früchte mit den Eiweißstoffen des Plasmas, ohne Zuhilfenahme von Oxydasen zu erklären. Man vergleiche darüber S. 54 des Fünften Bandes, sowie die Anschauungen FAHRION's sowie LUMIÈRE's und SEYEWETZ' über Lederbildung (S. 662 dieses Bandes). Da RIVIÈRE und BAILHACHE (1) Hydrochinon in 30 Birnenteilen nachgewiesen haben, so könnte hier sogar Chinon einer der lederbildenden und färbenden Gerbstoffe sein. Die von KELHOFER (1) zuerst beobachtete Abnahme des Gerbstoffgehaltes von Birnenbrei an der Luft erklärt sich bei Annahme einer Lederbildung ohne weiteres. Auch Aepfel zeigen nach KELHOFER's späteren Untersuchungen (2) dasselbe 35 Verhalten. Bei Luftabschluß bleibt nach KELHOFER (3) die Gerbstoffabnahme aus. Das stimmt mit der Anschauung von BEHRENS durchaus überein. Möglicherweise wird der lederbildende aromatische Körper erst durch enzymatische Spaltung eines glycosidischen Gerbstoffs gebildet. TICHOMIROFF (1) neigt schon dazu, die Fruchtgerbstoffe, u. a. der Dattel 40 und der Kakifrucht, für Glycoside zu halten, und M. WINCKEL (1) erklärt sie direkt für Phloroglucotannoide.

Infolge Oxydation des Gerbstoffs und Verbindung mit den Eiweißstoffen der Fruchtzellen verlieren die Mispeln nach dem Teigwerden, die Schlehe nach Frost ihre natürliche Herbe und werden genießbar. Ebenso 45 wird die Frucht einer herben und daher selbst reif ungenießbaren Kakisorte (*Diospyros kaki*) genießbar, wenn die Fruchtzellen durch Dörren in der Sonne, durch längeres Einlegen in 30—40° warmes Wasser oder durch Alkoholdämpfe getötet werden. SAWAMURA (1) führt das auf die postmortale Mischung einer ursprünglich im Plasma lokalisierten Oxydase 50 mit dem im Zellsaft gelösten Gerbstoff zurück, wodurch der letztere zu einer geschmacklosen Substanz oxydiert werde. Anscheinend sehr ähnlich dem Milchsaft von *Rhus vernicifera* verhält sich nach den Mitteilungen von TSUKAMOTO (1) und O. LOEW (7) der Saft (Kakishibu) gewisser

anderer Sorten von *Diospyros kaki*, mit dem die Japaner Netze, Holzgefäße, Papier bestreichen, um sie dauerhafter und undurchdringlich für Wasser zu machen. Beim Stehen an der Luft bräunt sich der im frischen Zustande weiße Saft und scheidet einen unlöslichen Körper, ein Oxydationsprodukt des Gerbstoffs, aus, der die Poren des Papiers oder Holzes ausfüllt.

Jedenfalls sehr verwandt mit dem Braunwerden des Kernobstes und seiner Säfte ist das **Braun-** oder **Rahnwerden** (franz.: la casse) des **Weines.** Besonders deutlich tritt der Fehler bei Weißweinen in die Erscheinung, welche, in ein Glas eingegossen, von der Oberfläche aus, wo die Luft zutritt, sich allmählich und nach unten fortschreitend dunkler, schließlich braun färben. Der Geschmack ändert sich. Es stellt sich Trübung ein, und es scheidet sich schließlich ein feiner, dunkelbrauner, pulveriger Bodensatz ab, während der Wein wieder klarer wird, ohne natürlich den ursprünglichen Geschmack wieder zu erhalten. Bei Rotweinen ist die Ausscheidung des Niederschlags mit einem mitunter vollständigen Farbverlust verbunden. Mit Rücksicht darauf, daß im 18. Kapitel des Fünften Bandes dieser Weinfehler ausführlich besprochen werden wird, fassen wir uns hier kurz. GOUIRAND (1) war derjenige, welcher zuerst bei dem zweifellos der Krankheit zugrunde liegenden Oxydationsvorgang ein Enzym als Ueberträger des Sauerstoffs auf die autoxydable Substanz (Gerbstoff) annahm. Durch Einbringen der Alkoholfällung rahnen Weines vermochte er die Erscheinung auf gesunden Wein zu übertragen. Nach MARTINAND (1) ist die reife Beere der Sitz des Enzyms, das, gleich der Laccase, Guajaktinktur bläut, diese Fähigkeit aber durch Erwärmen verliert. Eine ähnliche Oxydase fand CORNU (1) in allen Organen der Rebe und PAVARINO (1) besonders in den von der *Peronospora viticola* befallenen Rebteilen. LABORDE (1) schreibt dem Pilz der Traubenfäule, der *Botrytis cinerea*, die Bildung der Oenoxydase zu, wodurch sich die Häufigkeit des Uebels im Gefolge nasser Herbste und starken Auftretens der Traubenfäulnis erklären würde. Färbt sich doch auch die Haut botrytisfauler Beeren braun! Nach BOUFFARD (1) heben Pasteurisieren des Weines bei 60° C und Einschwefeln (0,01—0,1 g SO_2 pro Liter) die Wirkung der Oenoxydase auf. Auch MÜLLER-THURGAU (1) bestätigt die vorbeugende Wirkung des Pasteurisierens. CAZENEUVE (1), der der *Botrytis* eine besondere Rolle nicht zugestehen möchte, untersuchte die Eigenschaften der Oenoxydase näher. Er fand, daß es sich um eine Phenolase handelt, die auch den Rotweinfarbstoff zerstört. Sie soll aber auch Alkohol und Bouquetstoffe verändern und im Wein unter Kohlensäureentwicklung wirken. Nach LAGATU (1), der die Existenz der Oenoxydase bezweifelt, spielt dagegen der Eisengehalt der Weine beim Rahnwerden die wesentliche Rolle. Das Eisen wirkt als Sauerstoffüberträger, während nach BERTRAND (7) Mangansalze als „Coferment“ die Wirkung der Oenoxydase fördern. PEGLION (1) nimmt einen doppelten Ursprung der Oenoxydase an. Sie ist allerdings im Beereninhalt, nach PERRAUD [illegible] (2) besonders in trockenen und heißen Jahren, als [illegible]ife, normal vorhanden, dazu kommt aber die [illegible] Versuchen erwiesen sich nur *Botrytis cin*[illegible] fähig, während TOLOMEI (1) auch für ve[illegible] angibt. LABORDE (3) arbeitete eine M[illegible] *Botrytis* quantitativ zu bestimmen bezw. [illegible]TINAND (2) inzwischen von der Oenoxy[illegible]

und sieht in der „casse“ nichts als einen Niederschlag, bestehend
Verbindung von entstandenem Aldehyd mit Phenolen (Gerbs
Rotweinen auch mit dem Rotweinfarbstoff. Die naheliegende
daß der dazu notwendige Aldehyd aus Alkohol durch Vermit
Oenoxydase entstehe, verneint PASSERINI (1). TRILLAT (2) will,
bemerkt, auch das Bitterwerden der Rotweine zunächst auf
bildung zurückführen, indem der durch Vereinigung des Alde
Ammoniak entstehende Aldehydammoniak sich in ein sehr bitt
hydharz verwandele. Die Entstehung des Aldehyds führt PASS
Kahmhefe und Essigbakterien zurück. Nach LABORDE (2 u. 3)
Botrytis-Oenoxydase durch Sauerstoff vernichtet. Die Zerstöru
ratur liegt bei ca. 85 ^{0} C. Bei der Gärung wird sie nur teilweise
Erwähnt sei die wenig fruchtbare Polemik, die zwischen CAZE
GOUIRAND (3) und BOUFFARD (2) über die Frage geführt wurd
Oenoxydase durch schweflige Säure zerstört oder nur gehemn
Nach LABORDE wird von seiner Einheit Oenoxydase, d. h. d
Menge, welche in 20 ccm der von ihm verwendeten Guajaktin
selben Grad der Bläuung hervorruft wie 0,5 mg Jod. bis ca. 1
farbstoff aus dem Liter Wein gefällt, der nicht gefällte Rest s
verfärbt. Man vergleiche auch LABORDE (4) und A. HAMM
technisch angewendete Entfernung der Farbstoffspuren aus we
preßtem Saft von Rotweintrauben durch Lüftung führen BOUFI
SÉMICHON (1) auf die Oenoxydase der Trauben zurück. Sow
Rahnwerden usw. der Rotweinfarbstoff verändert wird, sei hie
hingewiesen, daß nach HEISE's (1) und GLAN's (1) Untersuchu
Anthocyane, zu denen auch der Rotweinfarbstoff gehört, wahrs
Glycoside sind. Man vergleiche auch die Untersuchungen STA
den Rotweinfarbstoff bei BEHRENS (2) und die Zusammenstel
CZAPEK (1). Vielleicht spielen also glycosidspaltende Enzyme
Zersetzung der Rotweinfarbstoffe und sogar beim Rahnwerden d
überhaupt eine Rolle, wie BEHRENS (1) vermutet. Man verglei
S. 54 des Fünften Bandes. Die ganze Frage der Oenoxydase
mit ihr zusammenhängt, kann keineswegs als auch nur eini
geklärt gelten.

Daß der Sauerstoff beim **Altern** des **Weines** (s. Bd. IV, S.
Rolle spielt, ist längst bekannt. Durch Elektrolyse, bei der S
gebildet wird, und durch Zusatz von Wasserstoffperoxyd kan
Altelgeschmack erzeugt werden. Man vergleiche die Handbü
Kellerwirtschaft von BABO und MACH (1) sowie DAHLEN (1).
deshalb nicht wundernehmen, daß MARTINAND (1) auch für da
des Weines die Oenoxydase verantwortlich macht. Andrerseits
Autoren, welche das Bouquet auf die Oxydasen zurückführen v
TOLOMEI (1) das Muskatellerbouquet, SAINT-LAGER und AUBE
Bouquetstoffe der verschiedenen „grands crus“ des Beaujolai
Qualität wesentlich auf dem Mangangehalt des Bodens beru
Nach J. WOLFF (1) sollen die Oxydasen sogar möglicherweise
stehung gewisser Nebenprodukte der Gärung (Methylalkohol, s
in den Trestern begünstigen. Eine experimentelle Begründung
diese Ideen und Möglichkeiten fehlt natürlich.

Spontane Färbungen, welche gelegentlich auf oxydierende
zurückgeführt worden sind oder doch darauf zurückgeführt
könnten, spielen bei der Industrie der **Konserven- und Pr**
bereitung eine große Rolle, insofern sie tunlichst verhindert

müssen, damit das Aussehen der Produkte nicht leidet. Zu diesem Zwecke werden die zu konservierenden oder zu dörrenden Produkte (Gemüse, Kartoffeln usw.) zunächst blanchiert, d. h. in Wasser oder Dampf gekocht, ev. unter Zusatz von Citronensäure, Salz usw. Die Kartoffeln, deren Saft sehr zur Schwarzfärbung neigt, werden vor dem Dörren am 5 besten gedämpft, um ein weniggefärbtes oder farbloses Produkt zu erhalten. Nach BERTRAND (3) hängt die Färbung mit der Gegenwart einer Phenolase, nach REINKE (1) und BEHRENS (1) mit der Gegenwart eines dem Emulsin nahestehenden Enzyms oder des Emulsins selbst zusammen, welches einen an der Luft autoxydabeln und zum Farbstoff 10 werdenden Spaltling aus einem präexistierenden, luftbeständigen Glycosid frei macht. Unter Umständen gelingt es schon durch Einlegen in Salzwasser oder Essig die Verfärbung zu verhindern.

In Kastanienfrüchten fand PEGLION (2) Schwarzfärbung unter der Einwirkung des Kellerschimmels, *Racodium cellare*, eingetreten, der eine 15 Guajakoxydase ausgeschieden und die in den Keimblattzellen enthaltenen Gerbstoffe oxydiert hatte.

Auf die angebliche Rolle einer Oxydase in der Indigobereitung, wo in der Tat aber glycosidspaltende Enzyme wirksam sind, ist bereits auf S. 650 eingegangen worden. 20

Daß bei der Teebereitung verschiedene Forscher einer Oxydase die Hauptrolle zuschreiben, ist ebenfalls schon auf S. 656 erwähnt. Neuerdings will ARAM (1) zur Beschleunigung der Entwicklung des Aromas in Tee und Kaffee, wozu man schon früher sich des Ozons bediente, Stickstoffperoxyd verwenden. 25

Nach CARLES (1) entsteht das Kolarot durch Uebertragung des Sauerstoffs auf eine ungefärbte Muttersubstanz, vielleicht das Kolatin (s. S. 655) von GORIS, unter Vermittlung einer der Laccase ähnlichen Oxydase.

Die von LECOMTE einer Oxydase zugeschriebene Rolle bei der 30 Vanillebereitung hat bereits auf S. 657 ihren Platz gefunden. Für die Farbenänderung bei der Vanillebereitung ist bis jetzt eine Oxydase nicht verantwortlich gemacht worden.

Die schnelle Rötung der Chinarinde nach dem Ablösen (Bildung von Chinarot) schreibt TSCHIRCH (1) einem Enzym zu, indes einem emul- 35 sinartigen, das ein präexistierendes Glucotannoid spaltet; der aromatische Spaltling ist Chinarot oder geht an der Luft schnell in Chinarot über. Die Zerstörung des Gerbstoffs in der Eichenrinde an der Luft unter Braunfärbung (Phlobaphenbildung) schließt sich hier an.

Auch die durch die sogen. Fermentation hervorgerufene postmortale 40 Braunfärbung des Zimmts sowie die der Gewürznelken kommen vielleicht in ähnlicher Weise zustande. In Blättern und Rinde von *Cinchona*-Arten fand, nebenbei bemerkt, LOTSY (1) eine Peroxydase, welche Cinchonin unter Abspaltung von Ammoniak zersetzen soll, ähnlich wie die oxydierenden Enzyme des Tabakblattes das Nikotin (s. Bd. V, 45 S. 13).

Im Milchsaft verschiedener Kautschukpflanzen (*Hevea*, *Castilloa*, *Manihot*, *Landolphia* usw.) fanden PARKIN (1), LECOMTE (1) und C. O. WEBER (1) Oxydasen. Einen Zusammenhang mit der Färbung des Kautschuks nimmt insbesondere PARKIN an. WEBER fand neben einer Jodidoxydase ein Gly- 50 cosid im Milchsaft.

Die Dunkelfärbung der grünen Teile des Walnußbaumes bei Nekrobiose dürfte auf Oxydation des Hydrojuglons, das wahrscheinlich zunächst

aus einem Glycosid frei wird, und auf Verbindung des entstandenen Juglons mit den Eiweißstoffen des Plasmas zurückzuführen sein.

Die Färbung des Schwarzbrotes soll von dem Einwirken des von BOUTROUX (2) entdeckten Oxydins der Kleie auf ein Chromogen herrühren; 5 Näheres darüber im 25. Kapitel des Zweiten Bandes.

Selbst die Färbung von reifen Beerenfrüchten hat man auf Oxydasen zurückgeführt. NESTLER (1), der nahezu stets Pilzhyphen in reifen Wachholderfrüchten fand, konnte durch Impfversuche zeigen, daß diese Pilze das Blauwerden grüner (Schein-)Beeren sehr bald herbeiführen. LENDNER (1), 10 der drei Pilzarten fand, glaubt indessen, daß der Pilz eine aktive Rolle bei der Ausfärbung der Beeren nicht spielt, sondern daß die blaue bis schwarze Färbung durch Einwirkung fruchteigener Oxydasen und Peroxydasen auf die Tannoide der peripherischen Fruchtzellen entstehe. Von CHODAT und BACH (7) wurde das für die Schwarzfärbung der Beeren 15 von *Viburnum lantana* bestätigt. Ueber die Ausfärbung der trocknenden Tabakblätter vergleiche man S. 3 des Fünften Bandes.

Die Schwarzfärbung der Blätter und Rinde gewisser Weidenarten bei der Nekrobiose soll nach WEEVERS' (1) an *Salix purpurea* angestellten Untersuchungen von einer Oxydation des Pyrokatechins herrühren, das 20 selbst durch primäre Oxydation aus Salicylalkohol, dem Spaltungsprodukt des in den Organen der meisten Weidenarten enthaltenen Glycosids Salicin, entsteht. Durch Zerreiben etiolierter Triebe mit Sand wurde eine Flüssigkeit erhalten, die Pyrokatechinlösung schwarz färbte, diese Eigenschaften aber durch Erhitzen verlor. WEEVERS zählte das hypo-25 thetische Enzym, das Salicin nicht schwärzte, zu den Tyrosinasen, obwohl es sich zweifellos um eine Phenolase handeln müßte.

Eine der seltenen postmortalen Färbungen im Reich der höheren Pflanzen, welche auf Tyrosinase zurückgeführt wird, ist die von BOURQUELOT und HÉRISSEY (1) untersuchte Schwarzfärbung der Hülsen von *Vicia* 30 *Faba*. Um so zahlreicher sind solche Fälle im Tierreich: Alle dunkeln Farbstoffe (Melanine) läßt GESSARD (3), alle Pigmentflecke in der Haut DURHAM (1) durch Tyrosinasen entstehen. Erwähnt sei auch noch, daß nach DUBOIS (1) der Purpur der Purpurschnecken durch Einwirkung des oxydierenden Enzyms Purpurase auf das Chromogen Purpurin ent-35 stehen soll, und daß GESSARD (2) auch die Sepia durch oxydierende Enzyme entstehen läßt.

Nach TOLOMEI'S (2) der Nachuntersuchung sehr bedürftiger Angabe soll bei der stellenweise üblichen spontanen Gärung der Oliven ein oxydierender Körper, die Olease, eine Rolle spielen, welche auch ins 40 Oel übergeht und dieses allmählich durch Uebertragung des Sauerstoffs zersetzt. Die Zerstörungstemperatur liegt bei ca. 75° C. Nach MASTBAUM (1) sind allerdings die Oliven bei der Aufbewahrung zwischen Ernte und Verarbeitung durch festes Zusammentreten (Ensilieren) mit oder ohne Salz vor Luftzutritt zu schützen.

45 RABAK (1) führt das Vorkommen von Thymochinon neben Hydrothymochinon im ätherischen Oel von *Monarda fistulosa* auf die Oxydation des Hydrothymochinons durch eine Monarda-Oxydase zurück, die SWINGLE (1) für identisch mit der β-Katalase LOEW'S hält.

CARLES (2) fand in der manganreichen Baldrianwurzel eine Guajak-50 tinktur bläuende Oxydase von Phenolase-Charakter und ist geneigt, ihr bei dem postmortalen Entstehen des charakteristischen Baldriangeruchs eine Rolle zuzuschreiben. Erhitzte er die frische Wurzel auf 100°, so stellte sich der charakteristische Baldriangeruch nur spurenweise ein.

Nähere Untersuchung erscheint auch mit Rücksicht darauf wünschenswert, daß die pharmaceutischen Baldrianpräparate nach KIONKA und LIEBRECHT (1) sehr zersetzlich sind. Man vergleiche auch CHEVALIER (1).

Auch von anderen Autoren werden die in pharmaceutischen Extrakten enthaltenen Oxydasen vielfach für eintretende Zersetzungen 5 verantwortlich gemacht. So weist KUNZ-KRAUSE (1), allerdings allgemein, auf die in die Tinkturen übergehenden Enzyme als Ursache spontaner Veränderungen hin (s. S. 663). LÉPINOIS (1) fand Oxydasen in den benutzten Teilen von *Atropa belladonna* und *Aconitum napellus* sowie in den daraus bereiteten Tinkturen, VADAM (1) in *Helleborus foetidus*, und 10 beide schreiben den Oxydasen die Farbenänderung der Pflanzen und Tinkturen zu. LÖWY (1) führt allerdings das schnelle Zurückgehen der Wirksamkeit von Digitalisinfus auf Säurewirkung zurück; man vergl. auch S. 664. Vielleicht hängt mit diesen sehr der Aufklärung bedürftigen Vorgängen auch die von MERCK (1) betonte Tatsache zusammen, 15 daß spirituöse Extrakte von *Aconitum*, *Belladonna* usw. stets alkaloidreicher sind als wässerige. Daß aber erstere sich auch verändern, darüber teilt FIRBAS (1) Näheres mit.

Bei der allgemeinen Verbreitung sogen. Oxydasen im Pflanzenreich kann es nicht wundernehmen, daß auch die pflanzlichen Gummiarten fast 20 sämtlich Oxydasen enthalten. Besonders von BOURQUELOT (2 u. 5) ist darauf die Aufmerksamkeit gelenkt worden. Die ältere Literatur über die Gummasen findet man bei TSCHIRCH und STEVENS (2). Ueber die Oxydasen des arabischen Gummi speziell handelt SELIGMANN (1). BOURQUELOT (5) führt schon die natürliche Färbung der technisch verwendeten 25 Pflanzenschleime und Gummiarten, des arabischen Gummis, des Senegal-, Kap-, indischen, brasilischen Gummis, der australischen Gummiarten, des Kirschgummis usw. auf die Wirkung der Oxydasen auf Gerbstoffe des Gummis zurück. Nach HOOPER (1) enthält auch Kino ein der Laccase ähnliches Enzym, das nach WHITE (1) das Gelatinieren der Kinotinktur 30 verursachen soll. PINCHBECK (1) bestätigt das Vorkommen von Oxydasen im Akazienschleim. LEMELAND (1) fand Peroxydase in Feronia-Gummi. Soweit pharmakologisch wirksame Substanzen (Alkaloide u. dgl.) Phenolcharakter haben, werden sie in mit derartigen, nicht-gekochten Gummiarten, besonders mit Gummi arabicum bereiteten Emulsionen, wie BOUR- 35 QUELOT (5) ausführt, verändert, oxydiert werden. Dahin gehören Morphin, Aloe, vanillinhaltige Präparate usw. Ueber die Einwirkung des arabischen Gummis auf Morphin vergleiche man BOUGAULT (1) und FIRBAS (2). Ueber Oxydasen und Medikamente berichtet auch CARLES (3).

Jedenfalls bedürfen alle diese Vorgänge strenger kritischer Sichtung 40 und Untersuchung mit Rücksicht auf den noch problematischen Charakter der oxydierenden Enzyme überhaupt.

§ 154. Durch Pilze und Bakterien hervorgerufene Reduktionsvorgänge.

Der derzeitige Stand der Frage nach der Existenz von reduzierenden Enzymen ist bereits in § 151 behandelt. 45

Reduktionsvorgänge, welche gelegentlich zum Teil bereits auf Enzyme zurückgeführt worden sind, sind an verschiedenen Stellen des Handbuches ausführlich erörtert. Dazu gehört insbesondere die Reduktion des freien Stickstoffs, seine Ueberführung in organische Stickstoffverbindungen, über welche man S. 9 u. 10 des Dritten Bandes vergleichen wolle. Ebenso 50

10 auch aus Hefe, durch Hitze zerstörbare Stoffe ausziehen lassen
Nitrate zu Nitriten reduzieren. STEPANOW (1) stellte dasselbe für
Gewebe fest, für welche ABELOUS und GÉRARD (1) die Tatsache be
Blausäure hemmt nach STEPANOW, wie auch MAASSEN (1) für Lebe
bestätigte, die Nitratreduktion.

15 ABELOUS und GÉRARD (4) beobachteten sogar, daß Pferdeniere
(unter Chloroform-Zusatz) Nitrobenzol zu Anilin reduziert
Fähigkeit aber durch Kochen verlor. Dem schließt sich die Beo
WALKO's (1) an, daß Pikrinsäure im tierischen Organismus u
Bakterien in einen Aminokörper, einen phenolartigen Körper u
20 roten Farbstoff umgewandelt wird. Aehnliches beobachtete ich
den nötigen Mineralstoffen versehenen Zuckerlösungen, die als
Stickstoffquelle Pikrinsäure, teils frei, teils als Calciumsalz in versc
Menge enthielten und mit Komposterde-Aufguß beimpft wurd
Pikrinsäure wurde bei nicht zu hohem Zusatz unter Rot- bis Brau
25 der Lösung von den sich entwickelnden Organismen (wesentlich S
pilzen) verwertet, also jedenfalls intracellulär, nach der Fär
schließen auch extracellulär, reduziert.

Ueber die Reduktion der Sulfate und Sauerstoffverbindu
Schwefels überhaupt sowie des Schwefels selbst vergleiche ma
30 des Dritten Bandes sowie S. 447 des Vierten Bandes, wo unter
duktasen der Hefe auch die Schwefel-Reduktase, das Philoth
handelt ist. Man vergleiche auch Bd. IV, S. 257 u. 526. I
gemachten Angaben tragen wir nach, daß nach RACIBORSKI
Aspergillus niger Thiosulfate unter Ausscheidung von freiem
35 reduziert. Der Schwefel lagert sich teils in den Hyphen, teil
cellulär ab. Die Sporenbildung wird unterdrückt. Andere Schim
(*Botrytis*, *Phycomyces*, *Thamnidium*, *Penicillium*) verhalten sich
Gebildeter (und von *Aspergillus* auch zugesetzter) Schwefel wi
RACIBORSKI (6 u. 5) zu Schwefelwasserstoff reduziert.

40 Während über die Reduktion von Phosphaten noch nichts
ist, liegen über die Reduktion der Arsensäure sowie im Zu
hange damit der Tellur- und Selensäure zahlreiche Arbeiten vo
Ergebnisse auf S. 294 des vorliegenden Bandes sowie auf S. 25
des Vierten Bandes mitgeteilt sind. Hier sei nur nachgetragen, d

BUCHNER'schen Preß- bezw. Aceton-Verfahren (s. Bd. IV, S. 349, und Bd. V, S. 129) konnte MAASSEN (1) für den PETRI'schen Butter-Bazillus, den *Bacillus proteus mirabilis*, den *Vibrio phosphorescens* DUNBAR, für *Penicillium brevicaule* und Hefe den Nachweis führen, daß sie Stoffe enthalten, welche Methylenblau, Schwefel, tellurige und selenige Säure reduzieren, 5 letztere zu elementarem Tellur bezw. Selen. Reduktion von telluriger und Tellursäure, sowie seleniger Säure in Bakterienkulturen beobachteten SCHEURLEN (1), KLETT (1) und BEIJERINCK (1).

Die Reduktion von Jodaten wird für Hefe angegeben. Für *Aspergillus niger* und andere Pilze, soweit untersucht, hat RACIBORSKI (5) 10 Jodat-Reduktion gefunden.

Der oxydierenden Wirkung gewisser Bakterien gegenüber Ferrosalzen (s. Bd. III, S. 193) steht voraussichtlich auch ein Vermögen anderer Organismen gegenüber, Ferrisalze zu reduzieren. Es liegt allerdings nur eine Angabe von POEHL (1) vor, nach der Bakterien Kaliumferri- 15 cyanid zu Kaliumferrocyanid zu reduzieren vermögen.

Am häufigsten hat man sich bei der Untersuchung der Zellen und Organe auf reduzierende Wirkungen nach dem Vorgang von EHRLICH (1) gewisser organischer Farbstoffe, besonders des Methylenblaus, aber auch des Indigos, des Methylvioletts, des Cyanins, Malachitgrüns, Guajak- 20 blaus usw. bedient, da hier die Reduktion durch die eintretende Entfärbung sehr deutlich wird. Ueber die in der Technik angewendete biochemische Reduktion des Indigos, die sogen. Küpengärung, vergleiche man S. 650. Die biochemische Entfärbung der Lackmustinktur durch Schimmelpilze und andere Mikroorganismen ist jedem Chemiker un- 25 angenehm bekannt. Sie wird nach KUNZ-KRAUSE (2) durch Zusatz eines Körnchens Thymol verhütet. Nach SMITH (1) wird Lackmus relativ schwer, Methylenblau am leichtesten reduziert. Wie auch FR. MÜLLER (1) und A. WOLFF (1) fanden, ist das Reduktionsvermögen keineswegs ein Privilegium der Anaerobionten, wenn auch bei diesen im allgemeinen 30 besonders stark ausgeprägt. SMITH und nach ihm CATHCART und HAHN (1) haben gezeigt, daß das Reduktionsvermögen bei entsprechender Abtötung der Organismen das Leben der Zellen überdauert und erst durch Erhitzen auf mehr als 60°, und auch dann nicht immer, verschwindet. Oxyhämoglobin wird nach SCHÜTZENBERGER (1) von Hefe, nach LABBÉ (1) 35 von Bakterien leicht reduziert. Zur Beurteilung des Reinigungsgrades von biologisch gereinigten Abwässern (s. 15. Kap. d. III. Bds.) empfahlen SPITTA und WELDERT (1) das Reduktionsvermögen einer Wasserprobe gegenüber Methylenblau bei Luftabschluß zu prüfen. SELIGMANN (6) verneint indessen die Zuverlässigkeit der Probe und schreibt ihr nur eine 40 beschränkte Bedeutung zu. LOEFFLER (1) empfiehlt zum Nachweis des Typhusbazillus in Erde, Fäces und Wasser und zur Unterscheidung von verwandten Arten die Verwendung einer mit Malachitgrün gefärbten, nach besonderer Vorschrift zu bereitenden, milchzuckerhaltigen Nährlösung.

Nach OLIVIERO (1) führen *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* 45 die antiseptisch wirkende Zimmtsäure in Styrol über. OLIVIERO bezeichnet diesen der Nachuntersuchung und des genaueren Studiums durchaus würdigen biochemischen Prozeß als einen Reduktionsvorgang, was er allerdings zweifellos nicht ist:

$$C_6H_5.CH:CH.COOH = C_6H_5.CH:CH_2 + CO_2. \qquad 50$$

Es handelt sich um eine einfache Abspaltung von Kohlensäure. OLIVIERO erklärt auf diese Weise gewisse spontan auftretende und am Geruch

nach Leuchtgas kenntliche, nicht seltene Veränderungen zimmtsäurehaltiger pharmaceutischer Präparate, besonders des Tolubalsam-Sirups.

Nach Malvezin (1) sei noch darauf aufmerksam gemacht, daß zweifellos die Bildung von Mannit (s. Bd. IV, S. 401) in zuckerhaltigen Flüssigkeiten, die im 18. Kapitel des Fünften Bandes zu behandeln sein wird, zu den biochemischen Reduktionsprozessen gehört.

Mit Rücksicht darauf, daß man auch die Wasserstoffperoxydzersetzung zu den Reduktionsvorgängen rechnen kann, sei hier die Arbeit H. van Laer's (1) über die enzymatische Katalyse von Wasserstoffsuperoxyd wenigstens erwähnt.

Nach Bach (2) nimmt der Katalasegehalt der Dauerhefe (Zymin) schon bei der Autolyse langsam ab, schneller, wenn Zucker zugefügt wird, also alkoholische Gärung stattfindet. Auch Verdünnung des Zymins wirkt beschleunigend auf diesen Vorgang.

§ 155. Oxydasen und Reduktasen in der Milch.

Außer der Galaktase (s. Bd. II, S. 148) und den baktericiden und immunisierend wirkenden Körpern der Milch sind auch durch Kochen zerstörbare reduzierende und oxydierende Körper unter den sogen. Milch-Zymasen Behring's (s. Bd. II, S. 282) vorhanden. Eine besondere Bedeutung haben dieselben neuerdings gewonnen, seitdem man gelernt hat, ihre Gegenwart bezw. ihr Fehlen als Kriterium dafür zu benutzen, ob man es mit roher oder mit erhitzter, ob mit nur bei niederer Temperatur pasteurisierter oder mit gekochter Milch zu tun hat. Sie eignen sich als Kriterium besonders deswegen, weil die Reaktionen auf Oxydasen und Reduktasen nicht nur besonders einfach, sondern insbesondere auch sehr deutlich und unverkennbar sind. Sie bestehen ja im Auftreten bezw. Verschwinden von Färbungen (s. S. 669 u. 687). Ganz kurz wird der Gegenstand auf S. 277 des Zweiten Bandes berührt.

Von oxydierenden Stoffen sind in der Milch vorhanden: Oxydase, Peroxydase und Katalase. Was letztere betrifft, so wurde die Zersetzung von Wasserstoffperoxyd durch Milch im Jahre 1889 von Babcock (1) entdeckt und im Jahre 1897 von Babcock und Russel (1), im Jahre 1903 von Neumann Wender (1) bestätigt. Nach R. van der Velden (1) und O. Jensen (1) wird der Katalasegehalt der Milch wesentlich von ihrem Gehalt an Leukocyten und an Bakterien beeinflußt. Nach Seligmann (4 u. 5) und H. Smidt (2) verdankt die Milch ihre Fähigkeit, Wasserstoffsuperoxyd zu zersetzen, überhaupt nur den Bakterien. Die Katalase häuft sich, wie Reiss (1) zeigte, besonders im Rahm an, vielleicht infolge der Oberflächenanziehung seitens der Fetttröpfchen. Da die Katalasewirkung der Milch nach dem Kochen infolge Bakterienentwicklung wiederkehren kann, eignet sich die Spaltung des Wasserstoffsuperoxydes unter Sauerstoffentbindung nicht zum Nachweis, ob rohe, ob gekochte Milch vorliegt.

Auch die Oxydase-Reaktion hat sich für diesen Zweck als wenig uverlässig erwiesen. Angewandt wurde sie zuerst von Arnold (1). W. Weber (1) sowie Arnold und Mentzel (1) überschichten die Milch Guajaktinktur und erhalten so ringförmige Färbungen.

Diese Färbung wird, vorausgesetzt, daß man ein gutes Präparat enig zuverlässigen Guajaktinktur verwendet, besser und sicherer n, wenn man der Milch Wasserstoffperoxyd zusetzt, sich also der

Peroxydase der Milch zur Hervorbringung der Reaktion bedient. Nach O. JENSEN (1) rührt die in roher Milch nie ausbleibende Peroxydase-Reaktion vom Tier, nicht von den Mikroorganismen der Milch her, ist der natürlichen Milch eigentümlich. Die launische Guajaktinktur wurde bald durch andere Chromogene ersetzt. STORCH (1), der die kritische 5 Temperatur für die Milchperoxydase zu 75—80° (in der Regel!) feststellte, empfahl unter den von ihm geprüften Körpern (meist Phenolen) vor allem das Paraphenylendiamin, das Blaufärbung gibt. Paraphenylendiamin ist denn auch trotz der geringen Haltbarkeit seiner Lösung das am meisten angewendete Reagens auf Peroxydase der Milch geblieben; 10 auch E. J. VAN ITTALIE (1) empfiehlt es vor allen anderen. Einzelne Autoren bringen allerdings andere Reagentien in Vorschlag, KOLLO (1) und SPOLVERINI (1) z. B. das Guajakol. DUPOUY (1) verwendete außer Guajakol und Paraphenylendiamin Hydrochinon, Pyrokatechin und α-Naphtol. UTZ (1) empfahl außer Guajakol ein Ursol D, das nach eigener Mitteilung 15 und nach WIRTHLE (1) indes mit Paraphenylendiamin identisch war bezw. Paraphenylendiamin als wirksamen Bestandteil enthielt, aber sich doch von reinem Paraphenylendiamin verschieden verhielt. LAUTERWALD (1) bestätigte letzteres, fand aber Ursollösung noch weniger haltbar. UTZ ersetzte das Wasserstoffsuperoxyd bei der Ursolprobe durch Ammonium- 20 persulfat. R. DU ROI und KÖHLER (1) empfahlen die schon STORCH bekannte Anwendung der Bildung von Jod aus Jodwasserstoffsäure durch das System Peroxydase plus Wasserstoffperoxyd. SAUL (1) will die Rotfärbung von Orthomethylamidophenolsulfat durch Peroxydase plus Wasserstoffsuperoxyd verwenden. SIEGFELD (1) ersetzt das Paraphenylendiamin 25 mit Vorteil durch das freilich viel teurere und noch schwieriger zu beschaffende Dimethylparaphenylendiamin. Ueber die Mängel des Paraphenylendiamins vergleiche man EW. WEBER (2).

Außer Oxydase und Peroxydase, von der Katalase abgesehen, enthält die Milch auch durch Hitze zerstörbare reduzierende Körper, Re- 30 duktasen, deren entfärbende Wirkung auf Methylenblau sich ohne weiteres als Reagens auf stattgefundene Erhitzung empfiehlt. Die Entfärbung des Methylenblaus durch Milch studierte zuerst SCHARDINGER (1) näher, nachdem bereits früher VAUDIN (1) und BLYTH (1) die Entfärbung von Indigo und Lackmus, NEISSER und WECHSBERG (1) die von Methylen- 35 blau selbst durch Milch beobachtet hatten. Gekochte Milch gibt die Reaktion nicht. Formalin fördert sie, insofern frische Milch erst nach Formalinzusatz entfärbt. SCHARDINGER führte die Reaktion auf Schwefelwasserstoff zurück. UTZ (1), der das Vorkommen dieses Gases in frischer Milch in Abrede stellt und den Milchzucker für die Reduktion des Farb- 40 stoffs verantwortlich macht, findet das Verfahren unbrauchbar. Auch H. SMIDT (1) hält die Reaktion für vieldeutig, da sie durch Milchzucker, reduzierende Enzyme und durch reduzierende Mikroorganismen hervorgerufen werden könne. Soweit rohe Milch ohne weiteren Zusatz Methylenblau entfärbt, handelt es sich nach SMIDT zweifellos um Bakterienwirkung, 45 und die Schnelligkeit der Entfärbung kann direkt als Maßstab für den Bakteriengehalt der Marktmilch dienen. Die Reduktion von Methylenblau durch Milch unter Aldehydzusatz ist ein von dieser Entfärbung durch Bakterien ganz verschiedener Prozeß und auf eine milcheigene „Aldehydkatalase“ zurückzuführen, das soll heißen, auf ein „Enzym“, 50 das Formaldehyd gegenüber Methylenblau katalysiert, die an sich sehr langsame Reduktion von Methylenblau durch Formaldehyd außerordentlich beschleunigt. Milchzucker wirkt erst nach Zusatz von Alkali reduzierend

auf den Farbstoff. Gegen die Anschauung, daß die Reduktionswirkung frischer und alter Milch auf zwei ganz verschiedene Ursachen zurückzuführen sei, hat sich SELIGMANN (2 u. 3) ausgesprochen, dem H. SMIDT (2) entgegentrat. SELIGMANN (4 u. 5) führt die Farbstoffreduktionen durch 5 Milch indes auch weiterhin sämtlich, ob sie mit oder ohne Aldehydzusatz vor sich gehen, auf direkte Bakterientätigkeit und auf Stoffwechselprodukte von Milchbakterien (Abbauprodukte des Caseins) zurück. Reduzierende und katalytische Wirkung der Milch kehren deshalb nach dem Kochen wieder und nehmen allmählich zu. Aber auch O. JENSEN (1) 10 unterscheidet scharf zwischen der von Milchbakterien herrührenden Reduktase (Hydrogenase) der alten und der Reduktase („Aldehydkatalase") der frischen Milch, welch letztere an die Milchkügelchen gebunden ist. BRAND (1) steht auf gleichem Standpunkte, während KONING (1) den Milchbakterien nur geringe Bedeutung für die reduzierenden Wirkungen 15 der Milch zuerkennen will. Man vergleiche auch RULLMANN (1).

Unter Berücksichtigung aller dieser Untersuchungen haben verschiedene Autoren Verfahren ausgearbeitet, um den Frischezustand der Milch zu prüfen, z. B. BUTTENBERG (1), P. TH. MÜLLER (1), BRAND (1). Ungekochte Milch muß die Reaktionen auf Peroxydase, Katalase und 20 Aldehydkatalase sofort geben, darf aber ohne Aldehydzusatz Methylenblau nicht reduzieren. Von BUTTENBERG wird auch Keimgehalt und Gärprobe mit Bestimmung der Art der Gärung (Gärung durch sporenbildende oder Milchsäurebakterien, im ersten Fall Buttersäure- oder Peptongärung) als Kriterium mit herangezogen. KROON (1) lieferte in 25 seiner Arbeit u. a. eine wertvolle Zusammenstellung aller vorgeschlagenen Verfahren.

Ueber das Buddisieren, die Haltbarmachung der Milch durch Zusatz vom Wasserstoffsuperoxyd, vergleiche man S. 265 des Zweiten Bandes. Das Verfahren, das nach einem Anonymus (1) in seinem Wesen schon 30 ziemlich alt ist, wurde von MUCH und ROEMER (1) dadurch verbessert, daß sie das zur Zerstörung des überschüssigen Wasserstoffperoxyds verwendete Blutfibrin zunächst durch farbloses Serum (Hämase) und später durch eine sehr viel wirksamere keimfreie Katalase-Lösung ersetzten. Leider ist das Verfahren nicht nur sehr teuer, sondern auch nach den 35 Untersuchungen von BAUMANN (1), HEWLETT (1) und ROUSSEAU (1) keineswegs durchgreifend wirksam. Die Ernährungsversuche MEYER's (1) und BÖHME's (1) sind allerdings günstig ausgefallen.

Mit der Frage, wie man mit Hilfe der Reaktionen auf oxydierende Körper der Milch einen Wasserstoffperoxydgehalt roher und gekochter 40 Milch nachweisen kann, beschäftigen sich ARNOLD und MENTZEL (2). Ob überhaupt die Milch mit Wasserstoffperoxyd behandelt war, läßt sich nach ADAM (1), auch wenn das Antiseptikum durch Katalase zerstört wurde, noch nachträglich auf Grund der Tatsache nachweisen, daß solche Milch die Fähigkeit, die Reduktion von Methylenblau durch Formaldehyd 45 zu beschleunigen, verloren hat. —

Daß Kleie eine Oxydase (Oxydin) enthält, und daß darauf die Färbung des Brotes zurückgeführt wird, ist bereits auf S. 684 mitgeteilt worden. Hier sei nur nachgetragen, daß NEUMANN WENDER und LEWIN (1) die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds durch Mehl (Katalase) zur 50 Beurteilung des Kleiengehalts und der Feinheit der Mahlung zu benutzen vorschlugen. Je feiner die Mahlung, je weniger Kleie, um so weniger Sauerstoff wird entwickelt. BREMER (1) fand das Verfahren indes noch keineswegs zur Benutzung reif. Ueber die Katalase der Kleie vergleiche

man HOFFMANN und SPIEGELBERG (1), über die oxydierenden „Enzyme" der Getreidearten und Mehle TARUGI (1), über Methylenblau-Entfärbung durch Weizen- und Roggenmehl SCHARDINGER (2).

Inwieweit gemäß der Ansicht von STRAUB die bei der Belichtung eintretende abtötende Wirkung fluorescierender Farbstoffe auf gewisse Mikroorganismen durch Entstehen eines labilen Farbstoffperoxyds und Uebertragung des Sauerstoffes dieses Peroxyds auf wesentliche Bestandteile des Protoplasmas zu erklären ist, ob ferner diese Uebertragung durch eine Peroxydase vermittelt wird, muß die Zukunft lehren. Die bisher über die Frage des Lichteinflusses auf die Wirkung fluorescierender Farbstoffe gegenüber Mikroorganismen, Enzymen und Toxinen vorliegende Literatur findet man in einem Sammelreferat von H. SCHROEDER (2) angeführt.

Literatur

zum Kapitel Oxydasenwirkungen.

*__Abelous,__ E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 138, S. 1619. *__Abelous,__ E., und __Aloy,__ J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 137, S. 885. — (2) Ebenda, 1904, Bd. 138, S. 382. *__Abelous,__ E., und __Biarnès,__ (1) Comptes rendus de la Soc. de Biologie, 1898, S. 495. *__Abelous,__ E., und __Gérard,__ E., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 129, S. 56. — (2) Ebenda, 1899, Bd. 129, S. 164 — (3) Ebenda, 1899, Bd. 129, S. 1023. — (4) Ebenda, 1900, Bd. 130, S. 420. *__Adam,__ (1) Journal de Pharmacie et de Chimie, 1906, Bd. 23, S. 273. *__Anonymus,__ (1) Molkerei-Zeitung, Berlin, 1907, Bd. 17, S. 331. *__Aram,__ A. E. B., (1) Dän. Patent 9717 v. 11. 5. 1906; cit. n. Chem.-Ztg., 1907, Bd. 31, Repert., S. 359. *__Arnold,__ C., (1) Archiv der Pharmacie, 1881, Bd. 219, S. 57. *__Arnold,__ C., und __Mentzel,__ C., (1) Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene, 1901/1902, Bd. 12, S. 205. — (2) Z. f. Untersuchung d. Nahrungs- und Genußmittel, 1903, Bd. 6, S. 305. *__Aso,__ K., (1) Bulletin College of Agric. Tokio, 1902, Bd. 5, S. 207. — (2) Ebenda, 1903, Bd. 5, S. 481. — (3) Beihefte z. Botan. Centralbl., 1903, Bd. 15, S. 208. *__Babcock,__ S. M., (1) Agric. Exp. Station, University of Wisconsin, Bull. No. 19, Madison, 1889. *__Babcock,__ S. M., und __Russel,__ H. L., (1) The 14th Annual Report of the Wisconsin Agric. Exp. Station, 1897. *__Babo__ und __Mach,__ (1) Handbuch des Weinbaues und der Weinbereitung, Bd. 2: Kellerwirtschaft, Berlin, 1885. *__Bach,__ A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1904, Bd. 37, S. 3785. — (2) Ebenda, 1906, Bd. 39, S. 1664 u. 1670. — (3) Ebenda, S. 2126. — (4) Ebenda, 1907, Bd. 40, S. 230. — (5) Ebenda, S. 3185. — (6) Cit. n. Chem.-Ztg., 1907, Bd. 31, S. 10. *__Bach,__ A., und __Chodat,__ R., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1902, Bd. 35, S. 2466. — (2) Ebenda, S. 3943. — (3) Ebenda, 1903, Bd. 36, S. 600. — (4) Ebenda, S. 606. — (5) Ebenda, S. 1756. — (6) Biochem. Centralbl., 1903, Bd. 1, S. 417. — (7) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1904, Bd. 37, S. 1342. — (8) Ebenda, S. 2434. *__Baumann,__ E., (1) Münchener med. Wochenschr., 1905, Bd. 22, S. 1083. *__Behrens,__ J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 514. — (2) Jahresbericht der Versuchsanstalt Augustenberg pro 1902. *__Beijerinck,__ M. W., (1) Archives Néerlandaises, 1904, 2. sér., Bd. 9, S. 131. *__Bertel,__ R., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1902, Bd. 20, S. 454. *__Bertrand,__ G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1894, Bd. 118, S. 1215. — (2) Ebenda, 1895, Bd. 120, S. 266. (3) Ebenda, 1895, Bd. 121, S. 166. — (4) Ebenda, 1896, Bd. 122, S. 900; 1898, Bd. 126, S. 653, 762, 842, 984; 1898, Bd. 127, S. 124, 728; 1900, Bd. 130, S. 1330; Ann. Pasteur, 1898, Bd. 12, S. 385; Ann. de chim. et de phys., 1904, 8. sér., Bd. 3, S. 181. — (5) Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 122, S. 1032. — (6) Ebenda, 1896, Bd. 122, S. 1215. — (7) Ebenda, 1897, Bd. 124, S. 1032. — (8) Ebenda, 1897, Bd. 124, S. 1355. — (9) Ebenda, 1901, Bd. 133, S. 1233; Ann. Pasteur, 1902, Bd. 16, S. 199. — (10) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 137, S. 1269. — (11) Ebenda, 1905, Bd. 141, S. 1255; Bull. des Sciences pharmacol., 1906, Bd. 13, S. 10. *__Binz,__ C., (1) Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 1896, Bd. 36, S. 275; 1897, Bd. 38, S. 259. *__Binz,__ C., und __Schulz,__ H., (1) Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 1879, Bd. 11, S. 220. *__Blyth,__ W., (1) Analyst, 1901, Bd. 26, S. 148. *__Böhme,__ A., (1) Deutsche med. Wochenschr., 1906, Bd. 32, S. 1729. *__Bouffard,__ A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 124, S. 706. — (2) Revue de Viticulture, 1897, Bd. 7, S. 81 u. 570. *__Bouffard,__ A., und __Sémichon,__ L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1898, Bd. 126, S. 423; Revue de Viticulture, 1898, Bd. 9, S. 377. *__Bougault,__ (1) Cit. n. Bot. Centralbl., 1902, Bd. 90, S. 221. *__Bourquelot,__ Em., (1) Comptes rendus de la Soc. de Biologie, 1896, Bd. 46, S. 896. — (2) Journal de Pharm. et de Chimie, 1896,

6. sér., Bd. 4, S. 481. — (3) Ebenda, 1897, 6. sér., Bd. 5, S. 164. — (4) Ebenda, 1897, 6. sér., Bd. 6, S. 425. — (5) Ebenda, 1904, 6. sér., Bd. 19, S. 473 u. 524. ***Bourquelot,** Em., und **Hérissey,** H., (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1898, 6. sér., Bd. 8, S. 385. ***Bourquelot,** Em., und **Marchandier,** L., (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1904, 6. sér., Bd. 20, S. 1. ***Boutroux,** L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1880, Bd. 91, S. 236; 1886, Bd. 102, S. 924; 1890, Bd. 111, S. 185; 1898, Bd. 127, S. 1224. — (2) Ebenda, 1891, Bd. 113, S. 203. ***Brand,** Erw., (1) Münchener med. Wochenschr., 1907, Bd. 54, S. 821. ***Bredig,** G., (1) Anorganische Fermente, Leipzig 1901. ***Bremer,** W., (1) Z. f. Untersuchung d. Nahrungs- und Genußmittel, 1906, Bd. 11, S. 569. ***Brown,** A., (1) Journal Chemical Soc., 1887, Bd. 1, S. 638. ***Buchner,** Ed., und **Gaunt,** R., (1) Liebigs Ann., 1906, Bd. 349, S. 149. ***Buchner,** Ed., und **Meisenheimer,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1903, Bd. 36, S. 634. ***Buchner,** H., **Buchner,** Ed., und **Hahn,** M., (1) Die Zymasegärung. München u. Berlin 1903. ***Buller,** A. H. R., (1) Annals of Botany, 1906, Bd. 20, S. 49. ***Buttenberg,** P., (1) Z. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1906, Bd. 11, S. 377. ***Carles,** P., (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1896, 6. sér., Bd. 4, S. 104. — (2) Ebenda, 1900, 6. sér., Bd. 12, S. 148. — (3) Cit. n. Chem. Centralbl., 1901, Bd. II, S. 654. ***Cathcart,** E., und **Hahn,** M., (1) Arch. f. Hyg., 1902, Bd. 44, S. 295. ***Cazeneuve,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 124, S. 406 u. 781. — (2) Revue de Viticulture, 1897, Bd. 8, S. 77. ***Chevalier,** J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1907, Bd. 144, S. 154. ***Chodat,** R., (1) Bulletin de l'herbier Boissier, 1905, Bd. 5, S. 413. — (2) Archives des Sciences phys. et nat., 1907, Bd. 23, S. 386. ***Chodat,** R., und **Bach,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1902, Bd. 35, S. 1275. — (2) Ebenda, 1902, Bd. 35, S. 2461. — (3) Ebenda, 1902, Bd. 35, S. 2466. — (4) Ebenda, 1902, Bd. 35, S. 3943. — (5) Ebenda, 1903, Bd. 36, S. 600. — (6) Ebenda, 1904, Bd. 37, S. 36. — (7) Archives des Sciences phys. et nat., 1904, Bd. 17, S. 477. ***Claus,** R., und **Embden,** G., (1) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., 1905, Bd. 6, S. 215. ***Cohnheim,** O., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1904, Bd. 42, S. 401. — (2) Ebenda, 1905, Bd. 43, S. 547. ***Cornu,** Ch., (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1899, 6. sér., Bd. 10, S. 342. ***Czapek,** Fr., (1) Biochemie der Pflanzen. Jena 1905. — (2) Jahrb. wiss. Bot., 1906, Bd. 43, S. 361. ***Dahlen,** H. W., (1) Weinbereitung. Braunschweig 1878. ***Dubois,** R., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1902, Bd. 134, S. 245; 1903, Bd. 136, S. 117. ***Dupouy,** R., (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1897, 6. sér., Bd. 5, S. 397. ***Durham,** Fl. M., (1) Proc. Roy. Soc. London, 1904, Bd. 74, S. 310. ***du Roi,** R., und **Köhler,** (1) Milchztg., 1902, Bd. 31, S. 17 u. 113. ***Ehrlich,** P., (1) Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Berlin 1885. ***Engler,** C., und **Broniatowski,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1904, Bd. 37, S. 3274. ***Engler,** C., und **Weißberg,** (1) Kritische Studien über d. Vorgänge d. Autoxydation. Braunschweig 1904. ***Epstein,** St., (1) Arch. f. Hyg., 1899, Bd. 36, S. 140. ***Euler,** H., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1904, Bd. 37, S. 3411; Arkiv för Kemi, 1904, Bd. 1, S. 329. — (2) Cit. n. Chem.-Ztg., 1905, Repert., S. 127. ***Firbas,** R., (1) Cit. n. Chem. Centralbl., 1902, Bd. II, S. 1145. — (2) Cit. n. Chem. Centralbl., 1906, Bd. I, S. 374. ***Gautier,** L. (1) Bull. Sciences pharmacol., 1907, Bd. 14, S. 191. ***Gessard,** C., (1) Comptes rendus de la Soc. de Biol., 1898, Bd. 5, S. 1033. — (2) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 136, S. 631. — (3) Ebenda, 1903, Bd. 136, S. 1086. — (4) Comptes rendus de la Soc. de Biol., 1906, Bd. 60, S. 505. ***Glan,** R., (1) Ueber den Malvenfarbstoff. Dissert., Erlangen 1892. ***Gößl,** J., (1) Beihefte z. Botan. Centralbl., 1906, Bd. 18, S. 111. ***Gonnermann,** M., (1) Pflügers Archiv, 1900, Bd. 82, S. 289. — (2) Ebenda, 1906, Bd. 113, S. 168. ***Gouirand,** G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 120, S. 887. — (2) Revue de Viticulture, 1897, Bd. 7, S. 33. — (3) Ebenda, 1897, Bd. 7, S. 415. — ***Green,** R., (1) Die Enzyme. Deutsch von Windisch, Berlin 1901. ***Grüß,** J., (1) W. f. Brauerei, 1901, Bd. 18, S. 310. — (2) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1903, Bd. 21, S. 356. ***Hahn,** M., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1900, Bd. 33, S. 3555. — (2) In: Buchner, H., Buchner, Ed., und Hahn, M., (1). ***Hamm,** A., (1) Arch. f. Hyg., 1906, Bd. 56, S. 380. ***Hausmann,** W., (1) Z. f. Hyg., 1906, Bd. 53, S. 509. ***Heffter,** A., (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 1901, Bd. 46, S. 230. — (2) Mediz.-naturwissensch. Archiv, 1907, Bd. 1, S. 81. ***Heffter,** A., und **Hausmann,** M., (1) Hofmeisters Beiträge, 1904, Bd. 5, S. 213. ***Heise,** R., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1894, Bd. 9, S. 478. ***Henneberg,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1898, Bd. 4, S. 20. — (2) Z. f. Spiritusindustrie, 1904, Bd. 27, S. 96. ***Henneberg,** W., und **Wilke,** (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1902, Bd. 9, S. 725. ***Hewlett,** R. T., (1) Lancet, 1906, Bd. I, S. 209. ***Hirsch,** E., (1) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., 1903, Bd. 4, S. 535. ***Hoffmann** und **Spiegelberg,** (1) W. f. Brauerei, 1905, Bd. 22, S. 441. ***Hooper,** (1) Pharmac. Journ., 1903, 4. sér., Bd. 16, S. 840. ***Hunger,** F. W., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1901, Bd. 19, S. 374. — (2) Cit. n. Bot. Centralbl., 1905, Bd. 99, S. 305. ***Issajew,** W., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1904, Bd. 42, S. 132. — (2) Ebenda, 1904, Bd. 42, S. 102; 1905, Bd. 44, S. 546. ***van Ittalie,** E. J., (1) Cit. n. Chem. Centralbl., 1904, Bd. I, S. 403. ***Jakoby,** M., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1900, Bd. 30, S. 135. ***Jensen,** O., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1907, Bd. 18, S. 211.

***Johannsen,** (1) Arb. a. d. Tübinger pathol.-anatom. Inst., 1905, Bd. 5, S. 326. ***Junitzky,** N., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1907, Bd. 25, S. 210. ***Kastle,** J. H., und **Elvove,** (1) Americ. chem. Journal, 1904, Bd. 31, S. 606. ***Kastle,** J. H., und **Loevenhart,** A. S., (1) Americ. chem. Journal, 1901, Bd. 26, S. 539. ***Kastle,** J. H., und **Shedd,** O. M., (1) Americ. chem. Journal, 1901, Bd. 26, S. 527. ***Katayama,** T., (1) Bulletin College of Agric. Tokio, 1906, Bd. 7, S. 91. ***Kayser,** E., und **Marchand,** H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1907, Bd. 144, S. 574 u. 714. ***Kelhofer,** W., (1) III. Jahresbericht Wädensweil pro 1892/1893, Zürich 1894, S. 103. — (2) V. Jahresbericht Wädensweil pro 1894/1895, Zürich 1896, S. 101. — (3) Die Klärung des Mostes. Bern 1905. ***Kionka,** H., und **Liebrecht,** A., (1) Deutsch. med. Wochenschr., 1901, Bd. 27, S. 850. ***Klett,** A., (1) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 33, S. 137. ***König,** J., **Hasenbäumer,** J., und **Coppenrath,** E., (1) Landw. Versuchsstationen, 1906, Bd. 63, S. 471. ***Kollo,** C., (1) Pharmac. Post, 1903, Bd. 34, S. 741. ***Koning,** C. G., (1) Milchwirtschaftl. Centralbl., 1907, Bd. 3, S. 49. ***Kostytschew,** S., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1904, Bd. 22, S. 207. ***Krasnoßelsky,** T., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1905, Bd. 23, S. 142. ***Kroon,** H. M., (1) Ref. in Z. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1905, Bd. 9, S. 160. ***Kunz-Krause,** (1) Apotheker-Ztg., 1903, Bd. 18, S. 9. — (2) Chem.-Ztg., 1904, Bd. 28, S. 942. ***Labbé,** (1) Comptes rendus de la Soc. de Biol., 1903, Bd. 55, S. 201. ***Laborde,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1896, Bd. 123, S. 1074. — (2) Ebenda, 1897, Bd. 125, S. 248. — (3) Ebenda, 1898, Bd. 126, S. 536. — (4) Revue de Viticulture, 1905, Bd. 24, S. 496. ***van Laer,** H., (1) Centralb. f. Bakt., 2. Abt., 1907, Bd. 17, S. 546. ***Lagatu,** H., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 124, S. 1461. ***Laurent,** E., (1) Ann. Pasteur, 1890, Bd. 4, S. 722. ***Lauterwald,** (1) Milchztg., 1903, Bd. 32, S. 241 u. 262. ***van der Leck,** J., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1906, Bd. 17, S. 486. ***Lecomte,** H., (1) Bull. du Muséum d'Histoire nat., 1902, Bd. 8, S. 442. ***Lehmann,** K. B., (1) Münch. med. Wochenschr., 1902, Bd. 49, S. 340. ***Lemeland,** P., (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1905, 6. sér., Bd. 21, S. 289. ***Lendner,** A., (1) Ref. in Bot. Centralbl., 1904, Bd. 93, S. 187. ***Lépinois,** E., (1) Journal de Pharm. et de Chimie, 1899, 6. sér., Bd. 9, S. 49. ***Lerat,** R., (1) Journal de Pharm. et de Chimie, 1904, 6. sér., Bd. 19, S. 10. ***Lesser,** E. J., (1) Z. f. Biologie, 1907, Bd. 49, S. 575. ***Lindet,** L., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 120, S. 370. ***Lindner,** P., (1) Oesterr. Brennerei-Ztg., 1905, Bd. 3, S. 326. ***Linossier,** (1) Comptes rendus de la Soc. de Biol., 1898, Bd. 5, S. 373. ***Loeffler,** F., (1) Deutsch. med. Wochenschr., 1906, Bd. 32, S. 289. ***Loew,** O., (1) Chem. Energie d. lebenden Zellen. München 1899. — (2) U. S. Dep. of Agric. Report Nr. 59, Washington 1899. — (3) U. S. Dep. of Agric. Bull. Nr. 68, Washington 1901. — (4) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1903, Bd. 10, S. 177. — (5) Landw. Jahrbücher, 1903, Bd. 32, S. 437. — (6) Bulletin College of Agric. Tokio, 1904, Bd. 6, S. 162. — (7) Mitteilungen d. Deutsch. Ges. für Natur- u. Völkerkunde Ostasiens, 1905, Bd. 10, S. 77. ***Loew,** O., und **Honda,** S., (1) Bulletin College of Agric., Tokio, 1904, Bd. 6, S. 125. ***Löwy,** J., (1) Wiener klin. Wochenschr., 1906, Bd. 19, S. 1157. ***Lotsy,** P., (1) Recueil des travaux bot. Néerland., 1904, Bd. 1, S. 135. ***Lumière,** Aug., **Lumière,** L., und **Chevrottier,** J., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 138, S. 652. ***Maassen,** A., (1) Arb. Kais. Ges.-Amt, 1904, Bd. 21, S. 377. ***Malvezin,** Ph., (1) Bull. de l'Assoc. des Chimistes de Sucr. et Dist., 1905, Bd. 22, S. 1064. ***Martinand,** V., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1895, Bd. 120, S. 426; 1895, Bd. 121, S. 502; 1897, Bd. 124, S. 512. — (2) Revue de Viticulture, 1898, Bd. 9, S. 305. ***Mastbaum,** H., (1) Chem. Revue d. Fett- und Harz-Ind., 1904, Bd. 11, S. 39. ***Maximow,** N. A., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1904, Bd. 22, S. 225. ***Mayer,** Ad., (1) Deutsche landw. Presse, 1907, Bd. 34, S. 476. ***Merck,** E., (1) Bericht über das Jahr 1897. Januar 1898, S. 61. ***Meyer,** (1) Ref. in Molkerei-Ztg., Berlin, 1906, Bd. 16, S. 572. ***Micheels,** H., und **de Heen,** P., (1) Revue Hortic. belge et étrangère, 1906, Bd. 32, S. 29. ***Much,** H., und **Römer,** P. H., (1) Berl. klin. Wochenschr., 1906, Bd. 43, S. 1004. ***Müller,** Fr., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1899, Bd. 26, S. 51 u. 801. ***Müller-Thurgau,** H., (1) Schweiz. Zeitschr. f. Obst- und Weinbau, 1894, Bd. 3, S. 8. ***Müller,** P. Th., (1) Arch. f. Hyg., 1906, Bd. 56, S. 108. ***Nagaoka,** M., (1) Bulletin College of Agric., Tokio, 1906, Bd. 7, S. 77. ***Neisser** und **Wachsberg,** (1) Münch. med. Wochenschr., 1901, Nr. 37. ***Nestler,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1899, Bd. 17, S. 320. ***Neuhaus,** Fr., (1) Cit. n. Chem.-Ztg., 1906, Repert., S. 96. ***Oliviero,** (1) Cit. n. Chem. Centralbl., 1906, Bd. II, S. 608. ***Oppenheimer,** C., (1) Die Fermente u. ihre Wirkungen. 2. Aufl., Leipzig 1903. ***Palladin,** W., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1905, Bd. 23, S. 240; 1906, Bd. 24, S. 97; Z. f. physiolog. Chem., 1906, Bd. 47, S. 407. ***Parkin,** J., (1) Annals of Botany, 1900, Bd. 14, S. 193. ***Passerini,** N., (1) Staz. sperim. agr. ital., 1906, Bd. 39, S. 221. ***Pavarino,** L., (1) Atti Ist. bot. di Pavia, 1906, Bd. 11, S. 16. ***Peglion,** V., (1) Cit. n. Revue de Viticulture, 1897, Bd. 7, S. 684. — (2) Rendiconti Acc. dei Lincei, 1905, Bd. 14, S. 740. ***Péré,** A., (1) Ann. Pasteur, 1896, Bd. 10, S. 417. ***Perraud,** (1) Revue de Viticulture, 1897, Bd. 7, S. 371. ***Petit** und **Terrat,** (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1898, 6. sér., Bd. 7, S. 157. ***Pinch-**

beck, G., (1) Pharmac. Journal, 1905, Bd. 20, S. 620. ***Poehl,** A., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1886, Bd. 19, S. 1159. ***Pohl,** J., (1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 1897, Bd. 38, S. 65. ***Porodko,** (1) Beihefte z. Bot. Centralbl., 1904, Bd. 16, S. 1. ***Pozzi-Escot,** Em., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1902, Bd. 134, S. 479. — (2) Oxydases et réductases. Paris 1902. ***Rabak,** F., (1) Pharmac. Review, 1901, Bd. 19, S. 200. ***Raciborski,** M., (1) Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., 1898, Bd. 16, S. 52. — (2) Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie, Classe des Sciences math. et nat., 1905, S. 338. — (3) Ebenda, 1905, S. 668. — (4) Ebenda, 1905, S. 693. — (5) Ebenda, 1905, S. 764. — (6) Ebenda, 1906, S. 733. ***Raudnitz,** R., (1) Centralbl. f. Physiol., 1899, Bd. 12, S. 790; Z. f. Biologie, 1902, Bd. 42, S. 106. ***Reinke,** J., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1882, Bd. 6, S. 263. — (2) Bot. Ztg., 1883, Nr. 5 u. 6. ***Reiss,** Em., (1) Zeitschr. f. klin. Medizin, 1905, Bd. 56, Heft 1/2. ***Rey-Pailhade, J. de,** (1) Bull. Soc. Chimique de France, 1906, 4. sér., Bd. 1, S. 165; Bull. général de Thérapie, 1906, Bd. 152, S. 620. ***Rivière,** G., und **Bailhache,** G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 139, S. 81. ***Röhmann** und **Spitzer,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1895, Bd. 28, S. 567. ***Rosenfeldt,** A. D., (1) Cit. n. Bot. Centralbl., 1906, Bd. 102, S. 492. ***Rothenbach,** F., und **Eberlein,** (1) Die deutsche Essigindustrie, 1905, Bd. 9, S. 233. ***Rothenbach,** F., und **Hoffmann,** W., (1) Die deutsche Essigindustrie, 1907, Bd. 11, S. 41. — (2) Ebenda, 1907, Bd. 11, S. 125. ***Rouge,** E., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1907, Bd. 18, S. 403. ***Rousseau,** E., (1) Bull. des Sciences Pharmacol., 1906, Bd. 13, S. 616. ***Roux,** G., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1899, Bd. 128, S. 289. ***Rullmann,** W., (1) Z. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1904, Bd. 7, S. 81. ***Saint-Lager und Aubin,** M., (1) Cit. n. Revue de Viticulture, 1906, Bd. 26, S. 469. ***Sarthou,** J., (1) Journ. de Pharm. et de Chimie, 1900, 6. sér., Bd. 11, S. 482 u. 583; Bd. 13, S. 486. ***Saul,** J. G., (1) Pharmac. Journ., 1903, Bd. 16, S. 617. ***Sawamura,** S., (1) Bulletin College of Agric., Tokio, 1903, Bd. 5, S. 237. ***Sazerac,** R., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 139, S. 90. ***Schaer,** Ed., (1) Vierteljahrsschr. d. naturforsch. Ges. Zürich, 1896, Bd. 41, S. 233. ***Schardinger,** Fr., (1) Z. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1902, Bd. 5, S. 1113. — (2) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1907, Bd. 18, S. 748. ***Scheurlen,** (1) Z. f. Hyg., 1900, Bd. 33, S. 135. ***Schönbein,** Chr., (1) J. f. prakt. Chem., 1856, Bd. 67, S. 496. ***Schroeder,** H., (1) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., 1907, Bd. 9, S. 153. — (2) Bot. Ztg., 2. Abt., 1905, Bd. 63, S. 129. ***Schützenberger,** (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1874, Bd. 7, S. 486. ***Schulze,** E., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1907, Bd. 50, S. 508. ***Schulze,** E., und **Castoro,** N., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1906, Bd. 48, S. 392. ***Seifert,** W., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1897, Bd. 3, S. 337. ***Seligmann,** E., (1) Cit. n. Chem. Centralbl., 1905, Bd. II, S. 58. — (2) Z. f. Hyg., 1905, Bd. 50, S. 97. — (3) Z. f. Untersuchung d. Nahrungs- und Genußmittel, 1906, Bd. 11, S. 454. — (4) Z. f. angew. Chemie, 1906, Bd. 19, S. 540. — (5) Z. f. Hyg., 1906, Bd. 52, S. 161. — (6) 1907, Bd. 56, S. 371. ***Sieber,** Nadina, (1) Z. f. physiolog. Chem., 1901, Bd. 32, S. 573. — (2) Ebenda, 1903, Bd. 39, S. 484. ***Siegfeld,** M., (1) Z. f. angew. Chemie, 1903, Bd. 16, S. 764. ***Slowtzoff,** R., (1) Z. f. physiolog. Chem., 1900, Bd. 31, S. 227. ***Smidt,** H., (1) Hyg. Rundschau, 1904, Bd. 14, S. 1138. — (2) Arch. f. Hyg., 1906, Bd. 58, S. 313. ***Smith,** Th., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1896, Bd. 19, S. 181. ***Spitta** und **Weldert,** (1) Mitteilungen der Kgl. Prüfungs-Anst. f. Wasserversorgung u. Abwässerbeseitigung, Berlin, 1906, Bd. 6, S. 160. ***Spitzer,** (1) Pflügers Archiv. 1897, Bd. 67, S. 615. ***Spolverini,** L. M., (1) Milchztg., 1904, Bd. 33, S. 404. ***Stepanow,** A., (1) Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol., 1902, Bd. 47, S. 411. ***Storch,** V., (1) Ref. in Z. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1899, Bd. 2, S. 239. ***Struve,** (1) Liebigs Ann., 1872, Bd. 163, S. 162. ***Swingle,** D. B., (1) Pharmac. Review, 1904, Bd. 22, S. 193. ***Tarugi,** N., (1) Cit. n. Chem. Centralbl., 1904, Bd. I, S. 217. ***Tichomiroff,** Wl., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1904, Bd. 139, S. 305. ***Tolomei,** G., (1) Atti Accad. dei Lincei, Roma, 1896, Bd. 5, S. 52. — (2) Ebenda, 1896, Bd. 5, S. 122. ***Trillat,** A., (1) Comptes rend. de l'Ac., 1903, Bd. 137, S. 922; 1904, Bd. 138, S. 94 u. 274. — (2) Ebenda, 1906, Bd. 143, S. 1244. ***Tschirch,** Al., (1) Schweiz. Wochensch. f. Chem. und Pharm., 1905, Bd. 43, S. 125. ***Tschirch,** Al., und **Hoffbauer,** R., (1) Archiv der Pharm., 1905, Bd. 243, S. 399. ***Tschirch,** Al., und **Stevens,** (1) Pharm. Centralhalle, 1905, Bd. 46, S. 501. — (2) Archiv der Pharm., 1905, Bd. 243, S. 504. ***Tsukamoto,** M., (1) Bulletin College of Agric., Tokio, 1902, Bd. 4, S. 359. ***Utz,** (1) Milchztg., 1903, Bd. 32, S. 129, 193, 211, 417, 594, 722; Chem.-Ztg. 1902, Bd. 26, S. 1121; 1903, Bd. 27, S. 200. ***Vadam,** Ph., (1) Journal de Pharm. et de Chimie, 1899, 6. sér., Bd. 9, S. 515. ***Vaudin,** (1) Répert. de Pharm., 1897, 3. sér., Bd. 9, S. 538. ***van der Velden,** R., (1) Biochem. Zeitschr., 1907, Bd. 3, S. 403. ***Vincent,** C., und **Delachanal,** (1) Comptes rend. de l'Ac., 1897, Bd. 125, S. 716. ***Vogelsohn,** (1) Dissert., Bern 1907. ***Walko,** (1) Cit. n. Heffter (2). ***Weber,** Ew., (1) Milchztg., 1902, Bd. 31, S. 657. — (2) Z. f. Fleisch- u. Milchhygiene, 1903, Bd. 13, S. 84 u. 112. ***Weber,** C. O., (1) Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 1903, Bd. 36, S. 3108. ***Weevers,** Th., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1904, Bd. 39,

S. 229. * **Wender,** Neumann, (1) Oesterr. Chem.-Ztg., 1903, Bd. 6, S. 1. — (2) Z. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1905, Bd. 10, S. 747. — (3) Oesterr. Brennerei-Ztg., 1905, Bd. 3, S. 325. * **Wender,** N., und **Lewin,** D., (1) Oesterr. Chem.-Ztg., 1904, Bd. 7, S. 173. * **Went,** F. A. F. C., (1) Jahrb. wiss. Bot., 1901, Bd. 36, S. 611. * **White,** (1) Pharm. Journ., 1903, Bd. 16, S. 644, und Bd. 17, S. 702. * **Winckel,** M., (1) Pharm. Ztg., 1905, Bd. 50, S. 453. * **Wirthle,** (1) Chem.-Ztg., 1903, Bd. 27, S. 432. * **Wolff,** A., (1) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1900, Bd. 27, S. 849. * **Wolff,** J. (1) Z. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1901, Bd. 4, S. 391. * **Woods,** A. F., (1) Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., 1899, Bd. 5, S. 745. — (2) U. S. Dep. of Agric., Bureau of Plant Industry, Bull. Nr. 18, Washington 1902. * **Wróblewski,** A., (1) Centralbl. f. Physiol., 1899, Bd. 13, S. 284. * **Yoshida,** (1) Journ. Chemical Soc.. London 1883, Bd. 43, S. 472.

Sach-Register

zusammengestellt von

Dr. Alexander Kossowicz,
Privatdozent an der Techn. Hochschule in Wien.

(Ein Sternchen * vor der Seitenzahl bedeutet Abbildung. — Unter C bezw. K v
Stichwörter suche man unter K bezw. C. Wörter mit ä, ö, ü suche man alph
unter ae, oe, ue. — Die Synonyma wichtiger Organismen sind angeführt, so d
betr. eines solchen an mehreren Stellen nachzusehen haben wird.)

A.

B.

C

D.

F.

H.

I.

J.

K.

L.

M.

O.

P.

Q.

R.

S.

T.

U.

V.

W.

X.

Z.

Berichtigungen.

S. 9	Zeile 36		ist zu streichen	
„ 20	„ 42		anstatt CHALARD	lies CHARLARD
„ 30	„ 4	von unten	„ Weisii	„ Weissii
„ 74	„ 21		„ WINOGWADSKY	„ WINOGRADSKY
„ 101	„ 24		„ bringen	„ bringt
„ 137	„ 2		„ Gloegenae	„ Gloeogenae
„ 137	„ 45		„ *Hypheotrix*	„ *Hypheothrix*
„ 140	„ 1		„ Leptothricheen	„ Leptotricheen
„ 140	„ 4		„ Cladothricheen	„ Cladotricheen
„ 142	„ 1		„ Leptothricheen	„ Leptotricheen
„ 142	„ 6		„ Cladothricheen	„ Cladotricheen
„ 180	„ 49		„ *Lactaria*-Arten	„ *Lactarius*-Arten
„ 209	„ 25		„ *Thelebolaceae*	„ *Telebolaceae*
„ 209	„ 25		„ *Thelebolus*	„ *Telebolus*
„ 209	„ 30		„ *Thelebolus*	„ *Telebolus*
„ 210	„ 20		„ Endomyces-Formen	„ *Endomyces*-Formen
„ 210	„ 47		„ *Thelebolus*	„ *Telebolus*
„ 210	„ 48		„ *Thelebolus*	„ *Telebolus*
„ 215	„ 39		„ *aquaeductum*	„ *aquaeductuum*
„ 219	„ 49		„ *Lactaria*	„ *Lactarius*
„ 225	„ 51		„ 54,21 Proz.	„ 32,96 Proz.
„ 240	„ 5	von unten	„ S. 605. — (2) . . S. 993.	„ S. 605. — (2) Ebenda, 1897, Bd. 19, S. 782. — (3) Centralbl. f. Bakt., 1. Abt., 1898, Bd. 23, S. 993. — (4) Journ. Americ. Chem. Soc., 1903, Bd. 25, S. 354.
„ 250	zwischen Zeile 8 u. 9, erste Formel rechts		„ Pur.	„ Purin
„ 250	zwischen Zeile 8 u. 9, in der Hypoxanthin-Formel		„ ‖ ‖ N C—	„ ‖ ‖ N—C—
„ 266	„ 47		„ 3. Kapitel	„ 3. und 5. Kapitel
„ 268	„ 43		„ LINDNER (4)	„ LINDNER (3)
„ 288	„ 2		„ *rhodochrochus*	„ *rhodochrous*
„ 289	„ 34		„ § 38	„ § 83
„ 290	„ 18		„ Sklererythin	„ Sklererythrin
„ 294	„ 2		„ 14. Kapitel	„ 15. Kapitel
„ 318	„ 53		„ MEISSNER'S (1), welcher	„ MEISSNER'S (1) aufmerksam gemacht, welcher
„ 345	„ 5		„ Vierten Abschnitte	„ 5. Kapitel
„ 410	„ 23 u. 24		„ Bakterien (z. B. die *Streptothrix chromogena*) und anderen	„ Bakterien und anderen



S.		Zeile			anstatt		lies	
S.	412	Zeile	51		anstatt	*n*ucker	lies	Zucker
„	421	„	52		„	*Ziger*	„	*niger*
„	427	„	13	von unten	„	Fränkel, A., (1) . . . 1899,	„	Fränkel, A., (1) . . . 1894,
„	427	„	11	„ „	„	S. 109	„	S. 609
„	478	„	40		„	Apaerotaxis	„	Anaerotaxis
„	549	„	20	„ „	„	Ermengen	„	Ermengem
„	609	„	12		„	*Haplothrichum*	„	*Haplotrichum*
„	616	„	47		„	(3 S. 124)	„	(3, S. 124)
„	644	„	45		„	Orseille	„	Orseille,
„	654	„	15		„	Glycotropaeolin	„	Glycotropäolin

Berichtigung zum Dritten Band.

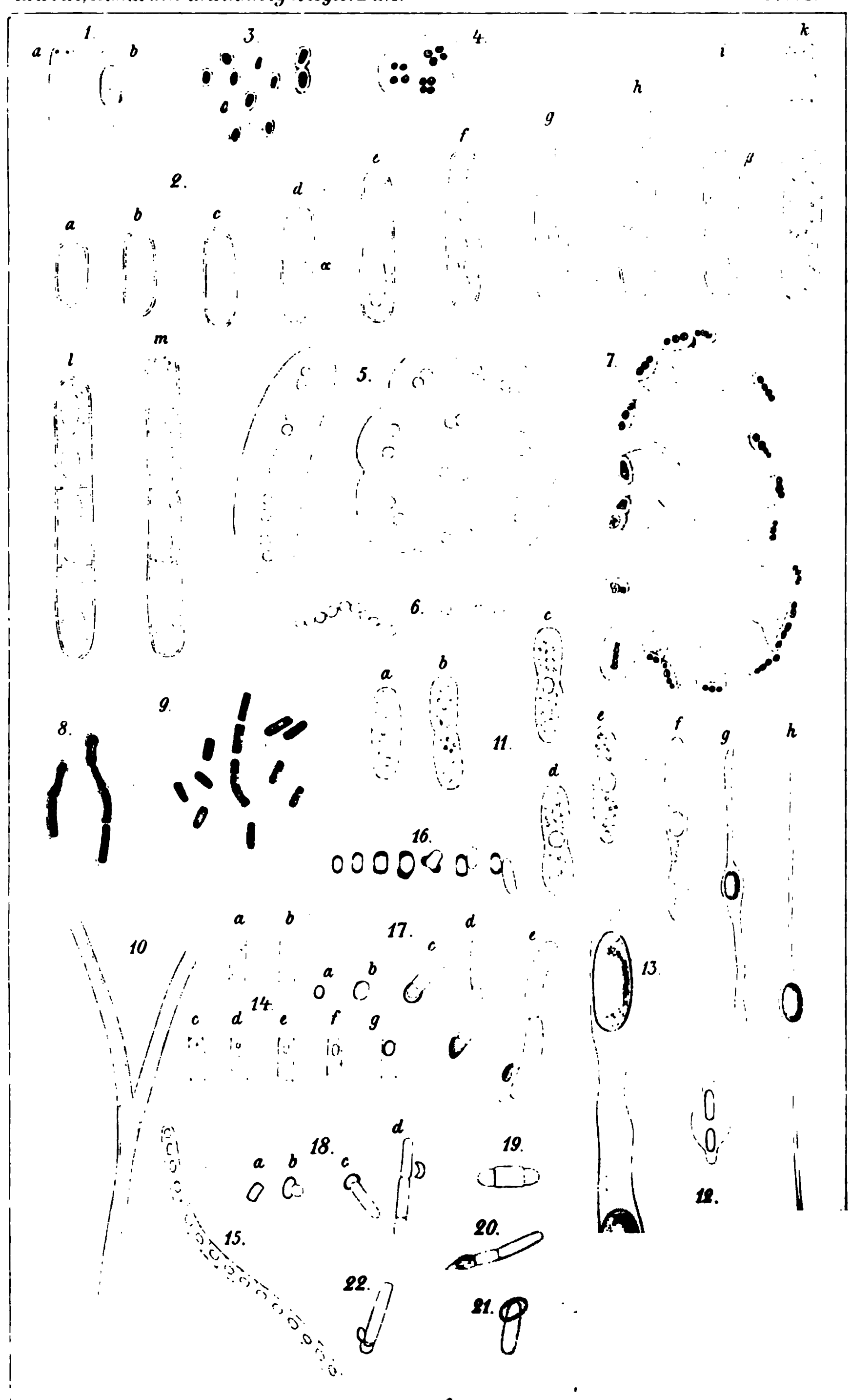
S. 123 Zeile 39 anstatt s. 14. Kap. lies s. 17. Kap.

Abkürzungen
der Zeitschriftentitel in den Literatur-Nachweisen.

Ann. de chim. et de phys. = Annales de chimie et de physique.
Ann. de microgr. = Annales de micrographie.
Ann. Pasteur = Annales de l'Institut Pasteur (Paris).
Arb. Kais. Ges.-Amt = Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte in Berlin.
Arch. d. Anat. und Phys. = Archiv der Anatomie und Physiologie. Physiolog. Abt. (Du Bois-Reymond).
Arch. f. Hyg. = Archiv für Hygiene.
Beitr. z. Biol. d. Pflanz. = Beiträge zur Biologie der Pflanzen (Cohn).
Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. = Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft.
Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. = Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft.
Biedermanns Centralbl. = Centralblatt für Agrikulturchemie (Biedermann).
Bot. Ztg. = Botanische Zeitung.
Centralbl. f. Bakt. = Centralblatt für Bakteriologie.
Chem.-Ztg. = Chemiker-Zeitung (Cöthen).
Comptes rend. de l'Ac. = Comptes rendus de l'Académie des sciences (Paris).
Comptes rendus de Carlsberg = Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg, Kopenhagen.
Dinglers Journ. = Dinglers polytechnisches Journal.
Hyg. Rundsch. = Hygienische Rundschau.
Jahrb. wiss. Bot. = Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik (Pringsheim).
J. federated Inst. Brewing = Journal of the Federated Institutes of Brewing.
J. f. Landwirtschaft = Journal für Landwirtschaft.
J. f. prakt. Chem. = Journal für praktische Chemie.
Kochs Jahresb. = Kochs Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen.
Landw. Jahrbücher = Landwirtschaftliche Jahrbücher (Berlin).
Landw. Jahrb. d. Schweiz = Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz.
Landw. Versuchsstationen = Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen (Nobbe).
Liebigs Ann. = Annalen der Chemie und Pharmacie (Liebig).
Milchztg. = Milchzeitung.
Mitt. Kais. Ges.-Amt = Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte.
Monatsh. f. Chem. = Monatshefte für Chemie (Wien).
Pflügers Archiv = Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie.
Poggendorffs Ann. = Annalen der Physik und Chemie (Poggendorff).
Virchows Archiv = Archiv für pathologische Anatomie (Virchow).
W. f. Brauerei = Wochenschrift für Brauerei.
Z. f. Biologie = Zeitschrift f. Biologie.
Z. f. d. ges. Brauwesen = Zeitschrift für das gesamte Brauwesen (München).
Z. f. Hyg. = Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten.
Z. f. Nahrungsmittel-Unters. etc. = Zeitschrift für Nahrungsmittel-Untersuchung und Hygiene (Wien).
Z. f. Pflanzenkrankheiten = Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten.
Z. f. physiolog. Chemie = Zeitschrift für physiologische Chemie.
Z. f. Spiritusindustrie = Zeitschrift für Spiritusindustrie.
Z. f. wiss. Mikroskopie = Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Bacillus oxalaticus. *a* junge Zelle mit Zellsaftraum, *b* dieselbe plasmolysier
„ 2. Entwicklung und Teilung einer Zelle von Bacillus oxalaticus in Zwischenräun von 5 zu 5 Minuten gezeichnet. Bei *α* erste Bildung der Plasmabrücke, *β* Beginn der Scheidewandbildung.
„ 3. Pseudomonas capsulata, gefärbtes Deckglaspräparat.
„ 4. Micrococcus tetragenus mit Kapseln. Gefärbtes Deckglaspräparat, Nieren einer Maus.
„ 5. Streptococcus (Leuconostoc) mesenterioides, lebend, aus zuckerhaltiger Nä bouillon mit Kapseln.
„ 6. Streptococcus mesenterioides aus zuckerfreier Nährbouillon, lebend, ohne Kaps
„ 7. Newskia ramosa nach Famintzin.
„ 8. Milzbrandbazillus mit echten Kapseln.
„ 9. Milzbrandbazillus mit Pseudokapseln.
„ 10. Verzweigung von Cladothrix (Sphaerotilus) dichotoma.
„ 11. Sporenbildung von Bacillus sporonema nach Schaudinn.
„ 12. Bacillus inflatus. 2 Zellen mit je 2 Sporen. Nach Alfr. Koch.
„ 13. Bacillus Bütschlii. Eine Zelle mit 2 Sporen. Nach Schaudinn.
„ 14. Sporenbildung bei Bacillus subtilis.
„ 15. Sporentragender Faden von Bacillus ramosus.
„ 16. Keimung der Spore von Bacillus subtilis nach Praźmowski.
„ 17. Keimung der Spore von Bacterium Petroselini nach Burchard.
„ 18. Keimung der Spore von Bacillus idosus nach Burchard.
„ 19. Keimung der Spore von Bacillus bipolaris nach Burchard.
„ 20. Keimung der Spore von Bacillus cylindrosporus nach Burchard.
„ 21. Keimung der Spore von Bacillus loxosus nach Burchard.
„ 22. Keimung der Spore von Bacillus loxosporus nach Burchard.
Vergrößerung 1000.



Migula gez. Verl. v. Gustav Fischer, Jena.



Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Bacillus subtilis, Heubazillus. Deckglaspräparat von einer Agarkultur. LÖFFLER'sche Geißelfärbung. Vergr. 1000.

Fig. 2. Bacillus vulgatus, Kartoffelbazillus (*Bac. mesentericus vulgatus*). Deckglaspräparat von einer 16 Stunden alten Agarkultur. LÖFFLER'sche Geißelfärbung. Vergr. 1000.

Fig. 3. Bacillus prodigiosus, Hostienpilz. Deckglaspräparat von einer 8 Stunden alten Agarkultur. LÖFFLER'sche Geißelfärbung. Vergr. 1000.

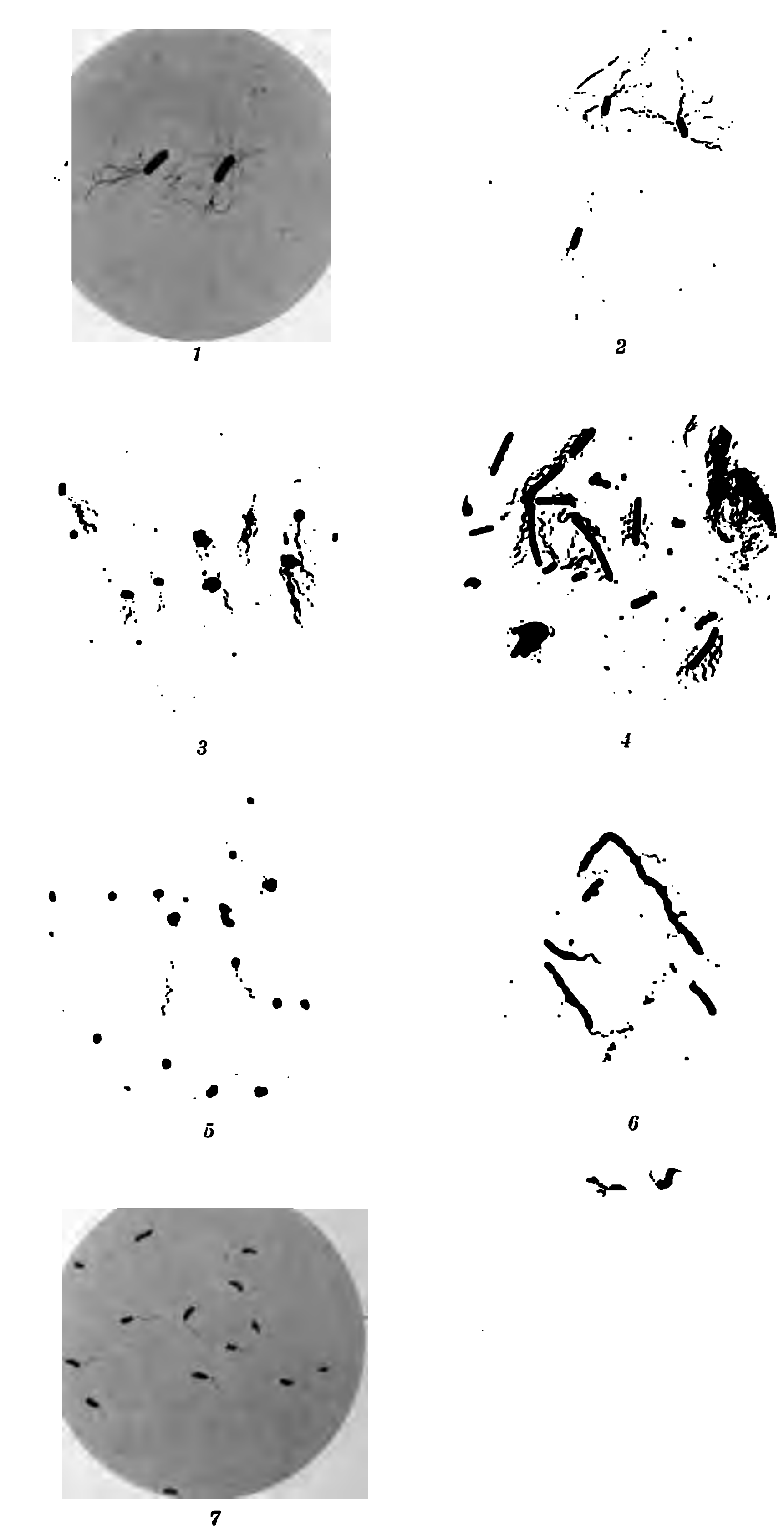
Fig. 4. Bacillus vulgaris (Proteus vulgaris). Deckglaspräparat von einer 12 Stunden alten Agarkultur. LÖFFLER'sche Geißelfärbung. Vergr. 1000.

Fig. 5. Micrococcus (Planococcus) citreus agilis. Deckglastrockenpräparat von einer 3 Tage alten Agarkultur. LÖFFLER'sche Geißelfärbung. Vergr. 1000.

Fig. 6. ***Pseudomonas aromatica.*** **Deckglastrockenpräparat von einer 8 Stunden alten Agarkultur. LÖFFLER'sche Geißelfärbung. Vergr. 1000.**

Fig. 7. Microspira nigricans (Vibrio nigricans). Deckglaspräparat von einer 8 Stunden alten Agarkultur. LÖFFLER'sche Geißelfärbung. Vergr. 1000.

Fig. 8. ***Spirillum rubrum.*** **Deckglaspräparat von einer 3 Tage alten Gelatinestrichkultur. LÖFFLER'sche Geißelfärbung. Vergr. 1000.**



1

2

3

4

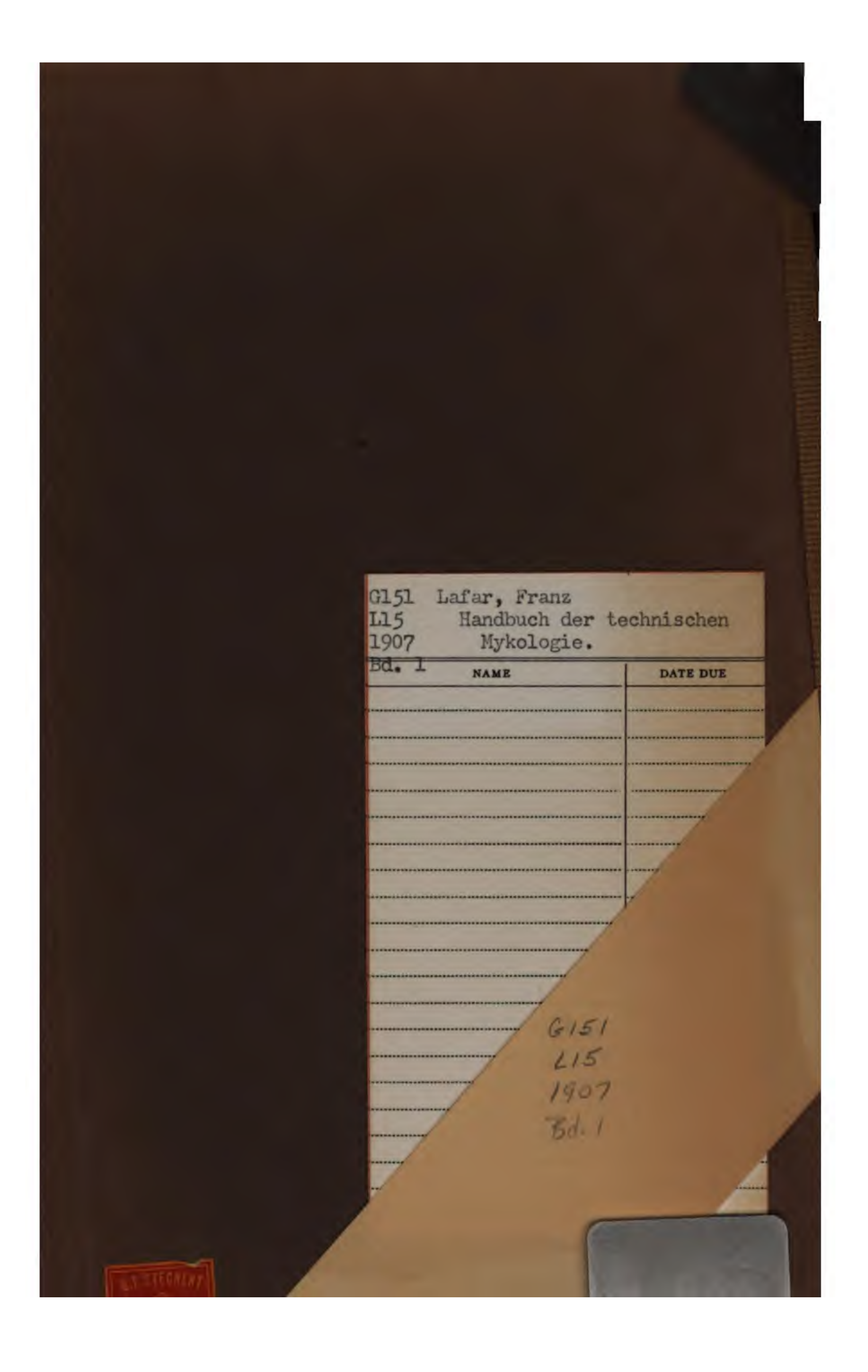
5

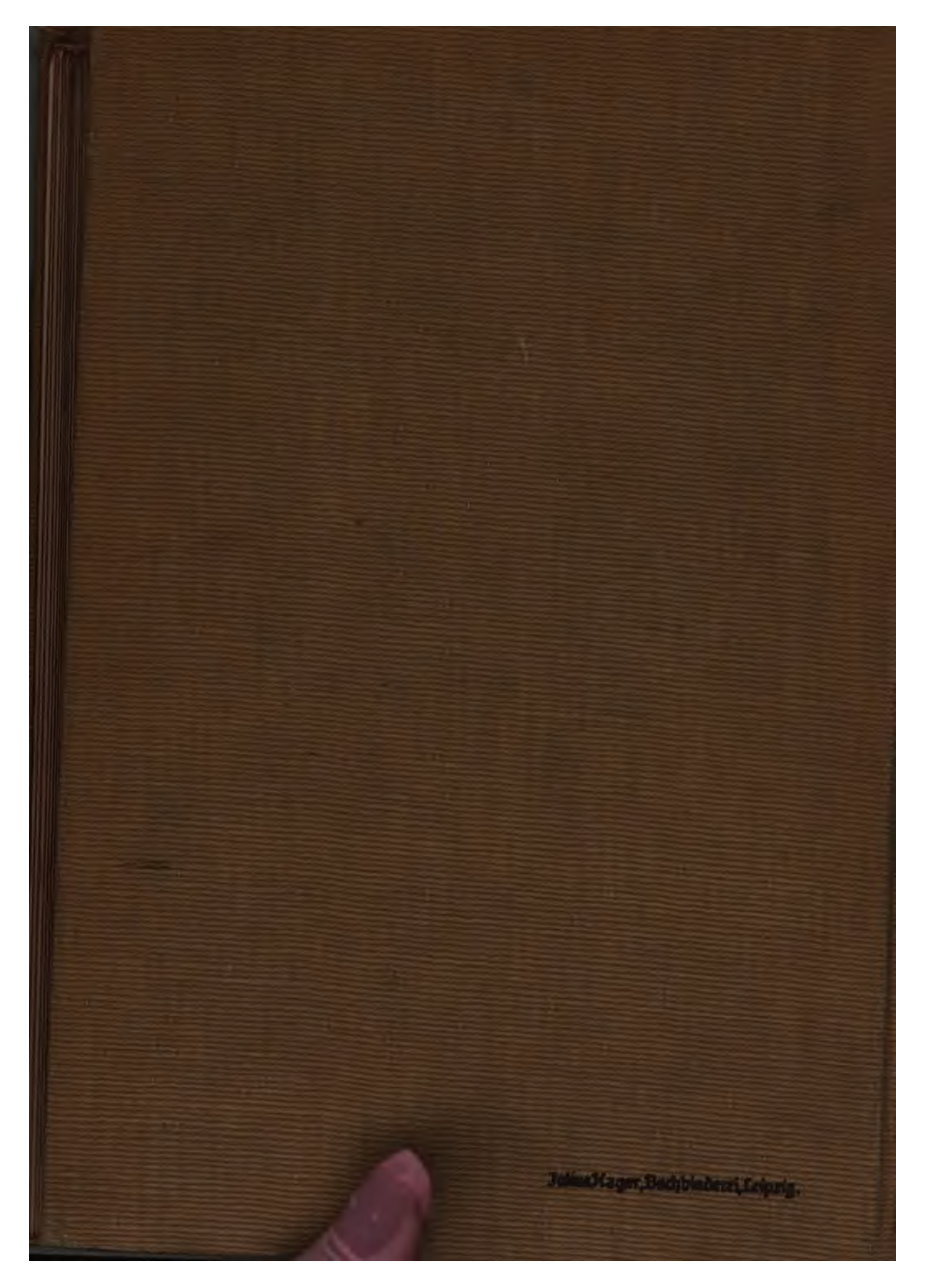
6

7








Julius Hager, Buchbinderei, Leipzig.